AMMONIAKBESTIMMUNG IM SERUM UND URIN BEI LEBERERKRANKUNGEN UND NACH NIERENTRANSPLANTATION

URSULA LITZINGER-KAHLE

1972

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. E. Buchborn

Ammoniakbestimmung im Serum und Urin bei Lebererkrankungen und nach Nierentransplantation.

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Ursula Litzinger-Kahle

aus

München

1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Berichterstatter: Prof. Dr. med. P. C. SCRIBA
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. M. M. FORELL
Dekan: Prof. Dr. med. W. SPANN
Tag der mündlichen Prüfung: 13. 6. 1972

MEINER MUTTER

Für die Überlassung des Themas danke ich Herrn Prof. E. EYMER. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. P. C. SCRIBA für die Übernahme und so freundliche Unterstützung dieser Arbeit. Weiterhin möchte ich Herrn Dr. med. F. KLUGE und Herrn Dr. med. O. A. MÜLLER für die Hilfe und Ratschläge danken. Nicht zuletzt danke ich Frl. R. FRÖHLICH für ihre technische Assistenz und Frl. F. HAAG für ihre Hilfe bei der Anfertigung der Abbildungen.

INHALTSVERZEICHNIS:

	Seite
A) EINLEITUNG.	1
B) METHODE:	
1. Prinzip	2
2. Reagentien	3
3. Apparate	5
4. Vorbereitung des Untersuchungsmaterials	5
a) Blut	5
b) Urin	6
5. Austreibung des Ammoniaks	7
6. Colorimetrische Bestimmung der Ammoniakkonzentration	9
7. Umrechnung der abgelesenen Extinktionswerte	10
C) ERGEBNISSE und DISKUSSION.	
I. Kritik der Methode - Vorversuche	12
1. Bestimmung des zugesetzten Blutes	12
2. Dauer der Farbentwicklung	13
3. Haltbarkeit des enteiweißten Blutes	15
II. Eichkurven	17
1. Blut	17
2. Urin	19
III. Normalbereiche	20
1. Untersuchungsmaterial - Blut	20
2. Untersuchungsmaterial - Urin	22

		Seite
IV.	Krankengut - Blut	23
V.	Krankengut - Urin	46
D)	ZUSAMMENFASSUNG	60
E)	LITERATURVERZEICHNIS	63

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:

ADH	- Adiuretin
Alb.	- Albumin
APH	- alkalische Phosphatase
Bili.	- Bilirubin
BSG	- Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
BSP	- Bromsulfaleinprobe
enzymat.	- enzymatisch
Ges.E.	- Gesamteiweiß
Geschl.	- Geschlecht
GFR	- Glomerulumfiltrat
γ-Glob.	- γ-Globulin
GOT	- Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	- Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HCO_3-Res.	- Bicarbonatresorption
J.	- Jahr
komb.	- kombiniert
Mikrodiff.	- Mikrodiffusion
Min.	- Minute
Mo.	- Monat
n.	- nach
NH_3-N	- Ammoniakstickstoff
Nephr.	- Nephrektomie
p.a.	- pro Analyse
P_{HCO_3}	- Plasmabicarbonat
P.I.	- Quickwert
post op.	- postoperativ
P_{PH}	- Plasma-P_H
s	- Standardabweichung
titr.Ac.	- titrierbare Azidität

Tr.	- Transplantation
$U_{NH_4^+}$	- Ammoniakausscheidung im Urin
U_{PH}	- Urin-P_H
Upm	- Umdrehung pro Minute
Ur	- Urin
V	- Urinvolumen/Zeiteinheit
vv.	- Venen
$\bar{x}$	- Mittelwert
z.T.	- zum Teil

A) EINLEITUNG:

Bereits im vorigen Jahrhundert wurden Ammoniakuntersuchungen bei Leberkranken durchgeführt und dabei gegenüber Lebergesunden eine Erhöhung von Ammoniak im Blut gefunden (1). Im Tierexperiment wurden beim Eck'schen Fistelhund nach reichlicher Fleischzufuhr komaartige Zustände bei gleichzeitig vorhandener Hyperammoniämie beobachtet. Diese wurde als Ursache für die Symptome der sogenannten Fleischintoxikation angesehen (2). Jedoch erst in jüngster Zeit wurde die Bestimmung der Blutammoniakkonzentration für Laboruntersuchungen wieder aufgegriffen, nachdem im postoperativem Verlauf von shuntoperierten Patienten in einigen Fällen das Auftreten eines periodischen Stupors beobachtet wurde (3, 4).

Die bisher beschriebenen Analyseverfahren lassen sich bezüglich ihres Vorgehens in zwei Gruppen aufteilen (5): einerseits wird die Bestimmung im Vollblut durchgeführt, wobei der Ammoniak durch Destillation (6), durch Mikrodiffusion (7, 8) oder durch Adsorption an Ionenaustauscher (9, 10) isoliert und anschließend mit Hilfe von titrimetrischen (7) oder colorimetrischen Verfahren (8, 9, 11 - 15) bestimmt wird. Andererseits wird der Ammoniak im eiweißfreien Filtrat, z.B. nach Trichloressigsäurefällung durch colorimetrische (13, 16, 17) oder enzymatische Analyse (18) bestimmt.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war:

1. Eine für Routine-Laborzwecke brauchbare Methode auszuarbeiten.
2. Mit dieser Methode Ammoniakkonzentrationen bei Leberkranken und Nierentransplantatträgern zu untersuchen.

B) METHODE:

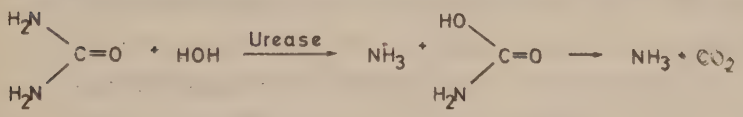
1. Prinzip:

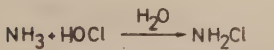
Die von uns angewandte Methode entspricht bis auf kleinere Modifikationen der Versuchsanordnung von H.WELLER(19, 20). Im Prinzip gliedert sich diese Methode in folgende zwei Versuchsabschnitte, nämlich Isolierung des Ammoniaks aus dem Untersuchungsmaterial (Blut, Urin) und anschließende colorimetrische Messung der Ammoniakkonzentration.

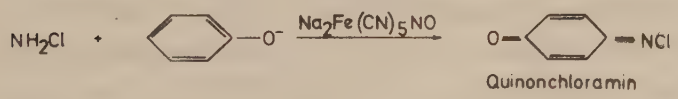
Bei der Ammoniakbestimmung im Blut muß zunächst eine Eiweißabtrennung durch Ausfällen mit starker Säure erfolgen; anschließend wird zentrifugiert und das Sediment verworfen. Die Freisetzung von weiterem Ammoniak aus N-haltigen Verbindungen des Überstandes, z.B. durch Abspaltung von Aminogruppen aus Aminosäuren, wird durch den sauren P_H im Überstand verhindert, da eine Hydrolyse von NH_2-Gruppen im sauren Milieu bekanntlich nicht stattfindet. Der Ammoniak muß jetzt aus dem Überstand isoliert werden, da dieser noch Amino- und andere Stickstoffverbindungen enthält, die ebenfalls Störfaktoren der Bestimmung darstellen, da sie in die spätere Farbreaktion mit eingehen würden. Durch Alkalisieren mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung wird das Gleichgewicht Ammoniak $\rightleftharpoons$ Ammoniumionen zur Seite des freien Ammoniaks verschoben. Durch mechanische Umwälzung der alkalischen Lösung über eine bestimmte Zeitdauer wird eine nahezu quantitative Austreibung des physikalisch gelösten Ammoniaks erreicht. Der ausgetriebene Ammoniak diffundiert an eine mit Zitronensäure benetze Fläche. Somit liegt der präformierte Ammoniak isoliert in Form von Ammoniumionen vor.

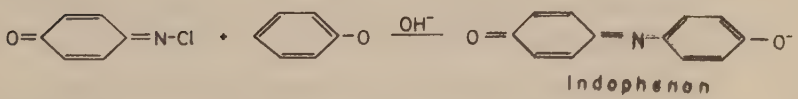
Nach einem von BERTHELOT (1859) entwickelten, von LUBOCHINSKY

und ZALTA (21) modifizierten, colorimetrischen Verfahren wird durch Zusatz von Phenol und Natriumhypochlorit ein Azofarbstoff gebildet. Seine Extinktion steigt linear mit der Ammoniakkonzentration an. Nach van SLYKE und HILLER (13) läuft die Berthelotreaktion wahrscheinlich in folgenden Stufen ab:









In etwas modifizierter Form wurde diese Methode zur Bestimmung der Ammoniakkonzentration im Urin herangezogen. Der Urin wird 1 : 100 verdünnt. Infolge dieser starken Verdünnung kann der noch minimale Gehalt an Eiweißkörpern vernachlässigt und das Untersuchungsmaterial direkt der Diffusion durch Alkalisieren unterworfen werden. Wie beim Untersuchungsmaterial Blut schließt sich die colorimetrische Bestimmung nach Berthelot an.

2. Reagentien: (p.a.)

1. Trichloressigsäure, 20%ig.
2. Kaliumcarbonatlösung 25%ig (gesättigt).

3. 1-molare Zitronensäure (21,015 g $C_6H_8O_7$ x H_2O p.a. werden in 100 ml aqua dest. gelöst).

4. Reagenzlösung A (5%ige Phenollösung, 7,5 mg% Natriumnitroprussid enthaltend). 25 g Phenol werden in 500 ml aqua dest. gelöst. Diese 5%ige Stammlösung hält sich ca. einen Monat im Kühlschrank. Wegen der begrenzten Haltbarkeit der Lösung nach Zusatz von Natriumnitroprussid wird aus der 5%igen Phenolstammlösung eine neue Reagenzlösung A durch Zusatz von 7,5 mg Natriumnitroprussid hergestellt. Zur Versuchsdurchführung wird die Reagenzlösung A 1 : 1 mit aqua dest. verdünnt.

5. Reagenzlösung B (0,25%ige Hypochlorit- und 2,5%ige Natriumhydroxidlösung). Die Hypochloritlösung kann im Labor selbst hergestellt (19) oder käuflich erworben werden. In beiden Fällen wird der Gehalt an aktivem Chlor (in g%) durch jodometrische Titration bestimmt. Wir beziehen die Hypochloritlösung durch die Fa. Asal, Schwalbach/Taunus. Aus dieser Hypochloritlösung wird eine 0,5%ige Lösung hergestellt und davon 50 ml nach Zusatz von 2,5 g Natronplättchen mit aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt. Auch diese Lösung wird etwa jede Woche neu hergestellt. Zur Versuchsdurchführung wird die Reagenzlösung B 1 : 1 mit aqua dest. verdünnt.

6. Ammoniumsulfatstammlösung mit 100 µg NH_3-N/ml (472 mg Ammoniumsulfat/Liter). Aus der Stammlösung werden durch Verdünnen fünf Standardlösungen mit 1 - 5 µg NH_3-N/ml hergestellt.

Die Reagenzlösungen A und B, die Zitronen- und die Trichloressigsäure werden bei + 4° C aufbewahrt.

3. Apparate:

1. Transportables Eisgefäß (Plastikbehälter) zum Einstellen des Trichloressigsäure-Blutgemisches.
2. Graduierte Zentrifugengläser (10 ml Volumen) mit Plastikstopfen.
3. Diffusionsfläschchen, mit am Plastikstopfen eingearbeitetem Glaspaddel (Fa. Hek, Lübeck).
4. Rotor (Fa. Hek, Lübeck).
5. Wasserbad.
6. Photometer (Eppendorf), mit Filter Hg 623 nm und Absaugküvette von 10 mm Schichtdicke.
7. Mettler Präzisionswaage.

Anmerkung: Alle von uns benutzten Glasgeräte werden mit Dichromatschwefelsäure gereinigt.

4. Vorbereitung des Untersuchungsmaterials:

a) Blut:

anden werden am Abend vor Versuchsdurchführung eiweißırt und bleiben bis zur Blutabnahme am nächsten Morgen, .chtern.

Blutentnahme werden bereits im Labor je 3 ml Trichlor- in zwei graduierte Zentrifugengläser einpipettiert. den sofort mit luftdicht abschließenden Plastikstopfen sen, einzeln ausgewogen (G_1) und in ein Gefäß mit einer er-Mischung gestellt.

rbereiteten Gläschen werden im Eiskühler zum Krankenbett

transportiert. Aus der Cubitalvene werden ca. 7 ml Blut entnommen und hiervon jeweils ca. 3 ml auf die zwei Röhrchen verteilt. Hierbei muß darauf geachtet werden, daß das Gefäß möglichst kurzfristig geöffnet bleibt, da ja die stark säure Trichloressigsäure in starkem Maß Ammoniak aus der Umgebung absorbiert. Anschließend werden die Gläser ca. 30 Sekunden zur Durchmischung kräftig geschüttelt und in das Eis zurückgestellt. Dann wird bei ca. 1500 xg 10 Minuten lang zentrifugiert. Jedes Zentrifugenglas wird nach Abtrocknen gewogen (G_2) und hiervon G_1 abgezogen. Die Gewichtsdifferenz ($G_2 - G_1$) entspricht der Menge zugesetzten Blutes in Gramm. Da die durchschnittliche Dichte von Blut mit $\rho = 1,06\ g/cm^3$ nur wenig von 1,00 differiert, erhält man durch Gleichsetzen von Masse und Volumen eine genauere Bestimmung des Blutvolumens (V_{BI}) als durch Ablesen an der Graduierung des Zentrifugenglases.

Dagegen wird das Volumen des Niederschlages (V_N) abgelesen; hierbei fällt ein Ablesefehler nicht so sehr ins Gewicht, da dieser Wert nur mit dem Faktor 0,1 additiv in die Auswertung eingeht (Auswertung: s.S. 11).

Der klare Überstand wird in ein weiteres Reagenzglas abdekantiert und eine Doppelbestimmung angesetzt: in zwei Diffusionsfläschchen werden jeweils 1 ml des Abgusses einpipettiert. Der niedrige P_H-Wert der Lösung erfordert auch hier ein rasches Arbeiten, um eine Verfälschung des Ergebnisses durch Absorption von Luftammoniak weitgehend zu vermeiden.

b) Urin:

Der Urin der Probanden wird sofort mit einer luftdicht abschließenden Ölschicht (Paraffinöl) bedeckt und zur Untersuchung ins

Labor gebracht. Um zu einer Ammoniakkonzentration zu gelangen, die unserem Meßbereich zugänglich ist, wird 1 ml des Urins mit aqua dest. ad 100 ml verdünnt. Da durch diese Verdünnung - selbst bei Eiweißausscheidung im Urin - eine Eiweißabtrennung nicht erforderlich ist, werden in zwei Diffusionsgläschen jeweils direkt 1 ml des verdünnten Urins einpipettiert.

5. Austreibung des Ammoniaks (Mikrodiffusion):

Es werden Diffusionsfläschchen nach unten stehender Abbildung verwendet.

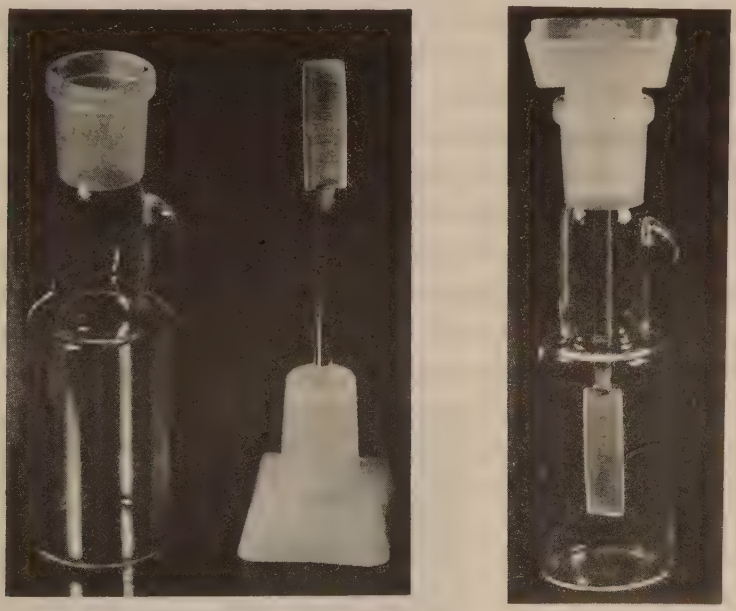


Abb. 1)

Die von uns verwendeten Diffusionsflaschen

Im Prinzip handelt es sich um modifizierte Weithalsflaschen, die etwa 25 ml fassen und mit einem gut abdichtenden Plastikstopfen

versehen sind. In diesem ist ein Glasstab eingearbeitet, der in seiner unteren Hälfte verbreitert und aufgerauht ist und so eine gut benetzbare Fläche bietet (s.Abb. 1).

Diese benetzbare Fläche taucht man in eine 1-molare Zitronensäure, schleudert den Überschuß ab und behält den Stab in der einen Hand. Mit der anderen Hand wird 1 ml gesättigte Kaliumcarbonatlösung zur Austreibung des zu bestimmenden Ammoniaks in das Diffusionsfläschchen, das bereits 1 ml Ausgangsmaterial enthält, pipettiert. Dieses wird sofort mit dem Stopfen verschlossen, der das säurebenetzte Paddel trägt. Eine Berührung des Paddels mit dem Schliff des Fläschchenhalses ist hierbei unbedingt zu vermeiden, da sich dann auch am Schliffhals Säure befände, die Ammoniak absorbieren und der colorimetrischen Bestimmung entziehen würde. Rasches Verschließen ist erforderlich, weil der entstehende und entweichende Ammoniak möglichst verlustfrei auf dem Paddel aufgefangen werden soll und andererseits Ammoniak direkt aus der Luft an dem Glasstab absorbiert werden könnte. Dann werden die Flaschen vorsichtig, d.h., ohne daß das Paddel mit der Flüssigkeit in Berührung kommt, in einen Rotor eingesetzt, in dem sie mittels Metallklemmen in waagerechter Lage fixiert sind (siehe Abb. 2).

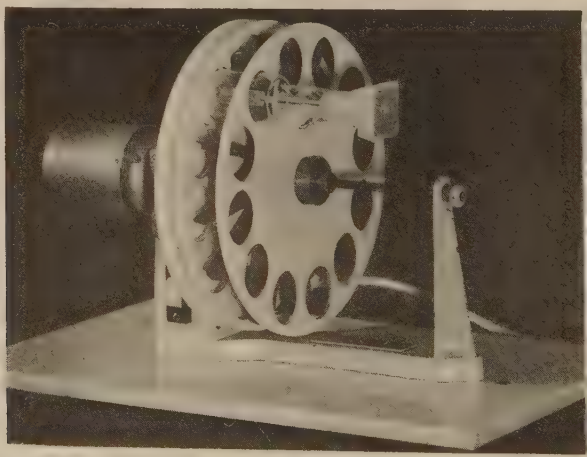


Abb. 2)

Einer der von uns verwendeten Rotoren

Bei einer Umdrehungszahl von 15 - 20 Upm rotieren die Fläschchen 30 Minuten lang.

6. Colorimetrische Bestimmung der Ammoniakkonzentration:

Nach Beendigung der Diffusion werden die Paddel - wiederum vorsichtig - aus den Gläsern genommen und jeweils in ein mit 2 ml Lösung A (1 : 1 verdünnt) gefülltes Reagenzglas gegeben. Durch kurzes Schräghalten des Glases und Drehen des Paddels wird eine völlige Mischung der anhaftenden Zitronensäure mit dem Phenolreagenz erzielt. Das Paddel wird anschließend aus dem Glas gezogen und gleichzeitig mit 2 ml Lösung B (1 : 1 verdünnt) aus einer Pipette gründlich abgespült.

Nach Umschütteln der Gläser werden diese in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Als günstig erwies sich eine Inkubationsdauer von 40 Minuten (s. Ergebnisteil, S. 14). Es entsteht eine je nach Ammoniakkonzentration mehr oder weniger intensive blaue Färbung. Zuweilen bildet sich aus unbekannten Gründen eine gelblichgrüne Farbstofflösung. Diese Proben werden bei der Messung nicht berücksichtigt. Um eine unregelmäßige Weiterbildung der Farbstoffintensität zu verhindern, werden die Gläser in fließendem Leitungswasser abgekühlt. Die Lösungen werden noch mit 1 ml aqua dest. verdünnt, um in einen günstigeren Meßbereich zu gelangen. Somit ergibt sich ein Endvolumen von 5 ml.

Die blauen Farblösungen werden nacheinander in eine Absaugküvette von 10 mm Schichtdicke gefüllt. Durch Bestimmung der Extinktion bei einer Wellenlänge von 623 nm werden die Farbkonzentrationen ermittelt. Zu jeder Versuchsreihe werden zwei Leerwertproben angefertigt. Da diese beiden Proben meist geringfügig

voneinander abweichende Extinktionswerte zeigen und sich außerdem der Nullpunkt des Photometers während des Meßvorganges verschieben kann, wird die Extinktion gegen Luft als Standard gemessen. Hierzu wird vor jeder Einzelmessung der Nullpunkt des Photometers bei leerer Küvette neu geeicht. Aus den so erhaltenen Doppelmeßwerten werden die mittleren Extinktionswerte gebildet und die Extinktion der Leerwerte von den übrigen Extinktionswerten abgezogen ($\triangle E$).

Zu jeder Bestimmung der Ammoniakkonzentration im Untersuchungsmaterial wird eine eigene Eichkurve angefertigt, um den Schwankungen gerecht zu werden, die aus nur schwer kontrollierbaren Veränderungen der Reaktionsbedingungen herrühren (z.B. Ammoniakkonzentration der Laborluft, Alter der Reagenzlösungen).

7. Umrechnung der abgelesenen Extinktionswerte:

An der Eichkurve werden für die aufbereiteten Proben die Konzentrationen an Ammoniak-Stickstoff (NH_3-N_A) abgelesen. Der Rückschluß auf die Konzentration im ursprünglichen Untersuchungsmaterial Blut bzw. Urin bedarf noch der folgenden Umrechnungen:

a) Konzentration an NH_3-N im Blut:

$$NH_3\text{-}N_{Bl} = NH_3\text{-}N_A \cdot \frac{(V_t - 0{,}1\ V_N)}{V_{Bl}} \cdot 100 \ \text{/ug/100 ml} \ .$$

NH_3-N_A = abgelesene Konzentration an NH_3-N.

$V_t = V_{Bl} + V_{TCE}$ (V_{TCE} = 3 ml exakt).

V_{Bl} = Volumen zugesetzten Blutes = $G_2 - G_1$.

V_N = Volumen des Niederschlages nach dem Zentrifugieren.

V_{TCE} = Trichloressigsäurevolumen.

b) Konzentration an NH_3-N im Urin:

$NH_3\text{-}N_{Ur} = NH_3\text{-}N_A \cdot 100$ /ug/100 ml .

C) ERGEBNISSE UND DISKUSSION:

I. Kritik der Methode - Vorversuche.

In Vorversuchen haben wir die dieser Arbeit zugrundeliegende, von H. WELLER beschriebene Methode in einigen Versuchsabschnitten, die uns fraglich erschienen, sorgfältig überprüft. Dies führte dazu, daß die Versuchsanordnung in zwei Punkten verändert wurde.

Erstens ermittelten wir das Volumen des zugesetzten Blutes anders und zweitens lasen wir zu einem anderen Zeitpunkt nach Zugabe der farbgebenden Lösung die Extinktion ab.

Außerdem haben wir in einer weiteren Meßreihe gemäß der Empfehlungen anderer Autoren (5, 22 - 24) den Einfluß einer Aufbewahrung von enteiweißtem Blut auf dessen Ammoniakgehalt untersucht.

1. Bestimmung des zugesetzten Blutes:

Nach H. WELLER wird die Menge zugesetzten Blutes durch Ablesen am Zentrifugenglas ermittelt. Für die Berechnung der Ammoniakkonzentration (s.S. 10) ist jedoch eine möglichst genaue Angabe der zugesetzten Blutmenge erforderlich.

Aus der Gleichung von S. 10 ergibt sich, daß eine fehlerhafte Bestimmung sowohl des Gesamtvolumens V_t als auch des Blutvolumens V_{B1} das Meßergebnis verfälscht. Ein Ablesen des Volumens ist dadurch erschwert, daß die Flüssigkeit durch das zugesetzte Blut stark getrübt ist und außerdem feste Partikel an der Wand des Reagenzglases haften bleiben. Dagegen wird eine exaktere Bestimmung des Blutvolumens durch Differenzwägung vor und nach Zusetzen des Blutes zur Trichloressigsäure und durch Gleichsetzen des so ermittelten Gewichtes mit dem Volumen erreicht.

2. Dauer der Farbentwicklung:

Anfängliche Schwierigkeiten, gemäß der ursprünglichen Vorschrift (20) reproduzierbare Meßwerte zu erhalten, führten dazu, in einer Versuchsreihe die günstigste Zeitdauer für eine optimale Farbentwicklung zu ermitteln. Wir verfolgten die Farbentwicklung bis zwei Stunden nach Mischen der Reagentien bei einer Temperatur von 37° C und untersuchten diese direkt an Eichlösungen, d.h. ohne vorherige Diffusion. Es war bereits nachgewiesen worden (20), daß Eichlösungen mit und ohne Diffusion gleiche Extinktionswerte ergeben.

Es wurden zwei Meßreihen aus Eichlösungen mit 0,1,2 bzw. 2, 3, 4 µg NH_3-N/ml erstellt. Jeweils 1 ml dieser Eichlösungen wurde in ein Reagenzglas pipettiert, jeweils 2 ml der Lösung A und B, 1 : 1 verdünnt, hinzugegeben und umgeschüttelt. Nach Zugabe der Lösung B wurde mit der Zeitmessung (0 Min.) begonnen und die Mischung in Küvetten gefüllt, die sich in einem auf 37° C thermostatisierten, automatischen Küvettenwechsler (im Photometer Eppendorf) befanden. Das Photometer war mit einem Schreiber gekoppelt.

Die in diesem Versuch ermittelten Kurven (s.Abb. 3) zeigen einen steilen Anstieg der Extinktion bis zur 30. Minute. In den nachfolgenden 10 Minuten bleibt die Extinktion nahezu konstant bzw. verändert sich nur noch wenig, d.h. der Prozeß der Farbentwicklung ist weitgehend abgeschlossen. In Übereinstimmung mit den Arbeiten von H. WELLER zeigte sich auch in unseren Versuchen, daß die Extinktion nach Erreichen eines Maximums wieder abnimmt, sofern die erhöhte Temperatur beibehalten wird. Das Maximum der Extinktion in unseren Versuchen lag bei 37° C - besonders bei den für die Eichkurve wichtigen Werten (s.C II 1) -

zum Teil erst in der 40. Minute. Dies veranlaßte uns, die Inkubationszeit (37° C) auf 40 Minuten auszudehnen und erst jetzt die Kinetik der Farbentwicklung durch Abkühlen im Wasserbad zu verlangsamen. Dadurch wurden ausreichend konstante und somit zuverlässige Meßwerte gewonnen.

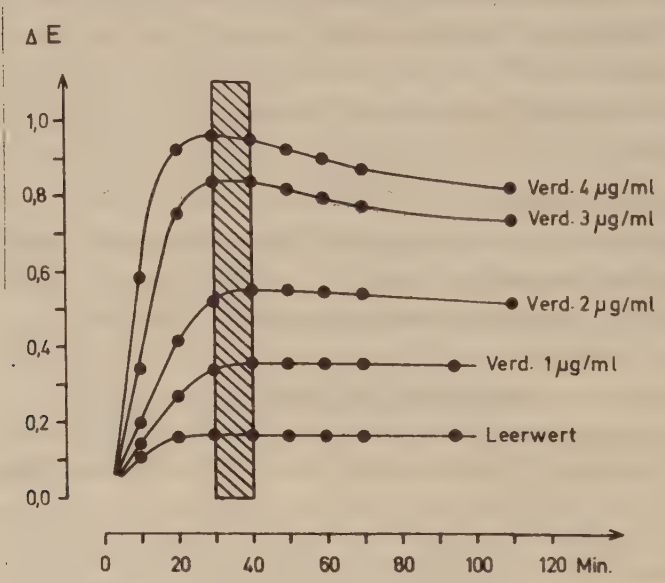


Abb. 3)

Zunahme der Extinktion verschieden konzentrierter Reagenzlösungen in Abhängigkeit von der Zeit bei einer Temperatur von 37° C. Die schraffierte Zone zeigt den Bereich, in dem sich die Extinktion nicht mehr wesentlich ändert.

3. Haltbarkeit des enteiweißten Blutes:

In einer Arbeit über die Bestimmung der Ammoniakkonzentration im Blut weist die Autorin (22) nach, daß sich der Überstand nach der Enteiweißung des Blutes in tief gefrorenem Zustand 72 Stunden lang ohne merkliche Zunahme des Ammoniakgehaltes aufbewahren läßt.

Wir haben einigen Probanden Blut entnommen und nachgeprüft, ob diese Aussage auch auf die von uns angewandte Methode zutrifft. Hierzu wurden Versuchsreihen in dreifachem Ansatz durchgeführt: ein Zentrifugenglas wurde mit 10 ml Trichloressigsäure gefüllt, gewogen und in einen Eiskühler gestellt. Pro Person wurden ca. 10 ml Blut zugegeben, nach kräftigem Schütteln zentrifugiert und nochmals gewogen. Die überstehende Flüssigkeit wurde in fünf 2 ml-Portionen aufgeteilt. Der Ammoniakgehalt einer dieser Portionen wurde sofort bestimmt, die übrigen wurden bei -17^{o} C aufbewahrt. Im Abstand von 24 Stunden wurde jeweils eine weitere Bestimmung durchgeführt.

Die Ergebnisse (s.Abb. 4) bestätigen, daß auch wir mit unserer Methode innerhalb der ersten 72 Stunden nach Blutentnahme gleichfalls nahezu identische Werte messen können.

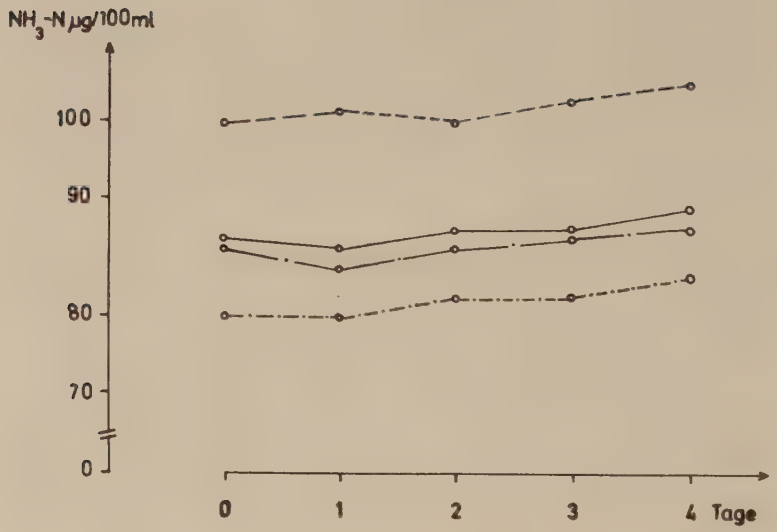


Abb. 4)

Verhalten der Ammoniakkonzentration in enteiweißtem Blut während einer Aufbewahrung von 4 Tagen.
Überprüfung bei vier Patienten. Die nach Enteiweißung und Zentrifugieren gewonnenen Überstände wurden in Einzelproben bei -17° C eingefroren und erst zur jeweiligen Bestimmung wieder aufgetaut.

II. Eichkurven.

Nachdem wir die Linearität der Beziehung Konzentration - Extinktion durch einzelne Eichkurven mit mehreren Eichwerten nachgewiesen hatten, ließen wir bei jeder Ammoniakbestimmung zumindest drei Eichwerte mitlaufen, nämlich einen Leerwert (= Wasserwert), einen Wert mit einer Konzentration von 1 /ug NH_3-N/ml und einen mit einer Konzentration von 2 /ug NH_3-N/ml. Bei Urinuntersuchungen ließen wir zumindest einen zusätzlichen Wert mit einer Konzentration von 5 /ug NH_3-N/ml mitlaufen.

Zur Herstellung der Standardlösungen wurden 4,72 g Ammoniumsulfat p.a. in 100 ml aqua dest. gelöst, von dieser Ammoniumsulfatstammlösung I durch Auffüllen von 1 ml auf 100 ml eine Stammlösung II hergestellt, die somit 100 /ug/ml NH_3-N enthielt. Aus dieser Stammlösung II wurden die Eichlösungen durch Auffüllen von 1 bzw. 2 bzw. 5 ml auf jeweils 100 ml gewonnen.

Jeweils 1 ml aqua dest. bzw. 1 ml der standardisierten Eichlösungen wurde in Diffusionsfläschchen pipettiert und analog den Proben mit Untersuchungsmaterial weiterverarbeitet. Die Markierungen der Eichkurve entsprachen jeweils dem gemittelten Extinktionswert aus Doppelbestimmungen abzüglich der gemittelten Leerwertextinktion. An der jeweiligen Eichkurve wurde die unbekannte Konzentration des Untersuchungsmaterials abgelesen.

1. Eichkurve - Blut:

Aus den an 71 verschiedenen Tagen angefertigten Eichkurven ergab sich eine gemittelte Eichkurve mit den Meßpunkten

a) $E = 0,1212 \pm 0,024$ $(=\bar{x} \pm s)$ für Leerwert N = 71

b) $E = 0,1554 \pm 0,011$ für 1 µg/ml N = 71

c) $E = 0,3150 \pm 0,022$ für 2 µg/ml N = 71

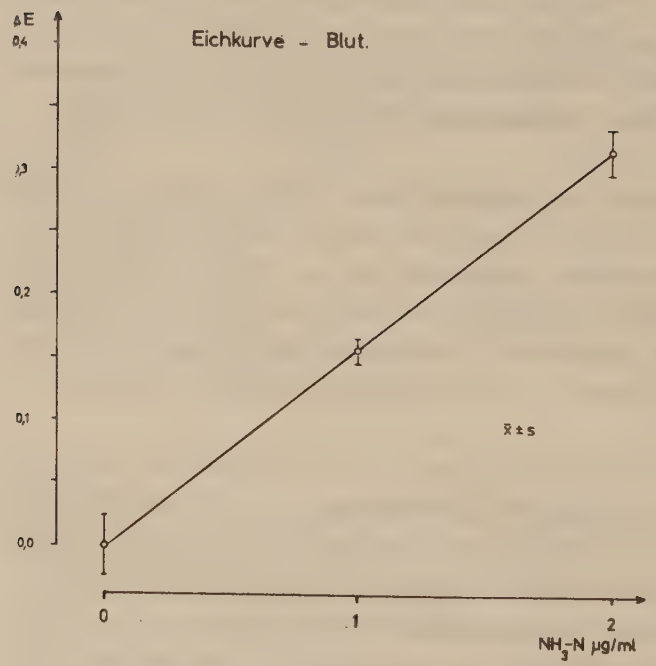


Abb. 5)

Eichkurve für NH_3-N im Blut mit Angabe der Standardabweichungen. Lineare Funktion zwischen Extinktion und Konzentration für den Bereich von 0 bis 2 µg NH_3-N/ml.

2. Eichkurve - Urin:

Aus den an 12 verschiedenen Tagen angefertigten Eichkurven ergab sich eine gemittelte Eichkurve mit folgenden Meßpunkten:

a) $E = 0,130 \pm 0,018$ $(= \bar{x} \pm s)$ für Leerwert $N = 12$

b) $E = 0,166 \pm 0,008$ für 1 µg/ml $N = 12$

c) $E = 0,332 \pm 0,009$ für 2 µg/ml $N = 12$

d) $E = 0,833 \pm 0,02$ für 5 µg/ml $N = 12$

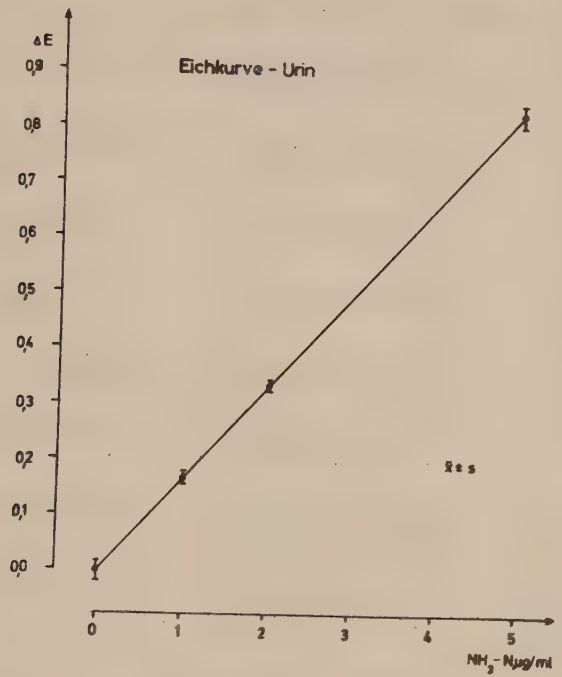


Abb. 6)

Eichkurve für NH_3-N im Urin mit Angabe der Standardabweichungen. Lineare Funktion zwischen Extinktion und Konzentration für den Bereich von 0 bis 5 µg NH_3-N/ml.

III. Normalbereiche.

1. Untersuchungsmaterial - Blut.

Zur Festlegung eines Normalbereiches haben wir den venösen Blutammoniakspiegel von 19 gesunden Personen bestimmt.
Am Abend vor der Blutentnahme wurde eiweißarme Kost verabreicht.

Tab. 1)
Normalbereich - Blut.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	NH_3-N/ug/100 ml
1	F.K.	27	m	59
2	A.G.	33	m	38
3	S.G.	24	w	66
4	O.Z.	25	m	47
5	G.P.	23	m	58
6	M.W.	24	m	60
7	E.K.	24	w	57
8	St.A.	27	m	49
9	K.H.	27	m	74
10	R.F.	23	w	65
11	K.M.	26	m	54
12	N.B.	23	m	49
13	St.H.	25	m	66
14	H.H.	24	m	63
15	J.P.	26	w	60
16	P.Th.	25	m	54
17	J.B.	26	m	64
18	R.P.	33	w	46
19	U.K.	26	w	39

$$\bar{x} \pm 2s = 56,3 \pm 18,7$$

Es ergab sich folgender Normalbereich:

$$56,3\ /ug/100\ ml \pm 18,7\ /ug/100\ ml\ (\bar{x} \pm 2s)$$

Unser Normalbereich erstreckt sich also von 37,6 bis 75 µg/100 ml. Der niedrigste Wert beträgt 38 µg/100 ml, der höchste 74 µg/100 ml (s. Tab. 1).

Der Vergleich unserer Werte für Lebergesunde mit Normalwerten anderer Autoren zeigte, daß die Werte größenordnungsmäßig im gleichen Bereich liegen (s. Tab. 2).

Tab. 2)

Autor	Methode	NH_3-N-Werte für Gesunde
HENNRICH u. BREUER (25)	Methode von THEORELL	$\bar{x}$: 42 ± 12 µg/100 ml (2s)
MARTINI (26)	komb. CONWAY u. BERTHELOT-Reaktion	40 - 70 µg/100 ml
MARTINI u. WIEBEL (27)	komb. CONWAY u. BERTHELOT-Reaktion	$\bar{x}$: 53 ± 13 µg/100 ml (2s)
MÜLLER BEISSENHIRTZ u. KELLER (17)	direkte Phenol-Hypochlorimethode	$\bar{x}$: 47,1 µg/100 ml (32 - 85 µg/100 ml)
MÜTING et al. (23)	enzymat. Methode	$\bar{x}$: 55 ± 30 µg/100 ml (2s) (31 - 99 µg/100 ml)
NISSEL et al (28)	CONWAY-Methode	$\bar{x}$: 44,6 µg/100 ml (10 - 78 µg/100 ml)
NÖLLNER u. BIRK (29)	Mikrodiff.-Methode	$\bar{x}$: 52,2 µg/100 ml ± 7,35 (s)
NORMITTAG et al (5)	CONWAY u. BERTHELOT	$\bar{x}$: 73 ± 13 µg/100 ml (2s)
ENGLHARDT et al. (30)	direkte Phenol-Hypochloritreaktion	$\bar{x}$: 63 ± 16 µg/100 ml (2s)
STROHMEYER et al. (31)	CONWAY u. BERTHELOT	$\bar{x}$: 52 ± 18 µg/100 ml (2s)

2. Untersuchungsmaterial - Urin.

Bei 10 gesunden Personen wurde die Ammoniakkonzentration im Urin bestimmt. Aus technischen Gründen wurden die Urinvolumina nicht gemessen. Es wurde eine durchschnittliche Harnmenge von täglich 1,3 Litern zugrundegelegt. Hieraus ergab sich als Normalbereich eine tägliche Ausscheidung von NH_3-N, die zwischen 0,61 und 0,85 g lag.

Tab. 3)

Nr.	Name	Alter	Geschl.	NH_3-N /ug/ml	NH_3-N mg/24 Std.
1	P.G.	24	m	620	806
2	B.N.	25	m	540	702
3	R.F.	23	w	470	610
4	H.T.	26	m	610	793
5	H.Z.	28	m	520	675
6	K.E.	24	w	660	858
7	S.G.	24	w	580	754
8	H.F.	23	m	640	832
9	G.A.	29	m	490	637
10	M.J.	25	m	560	728

Der Mittelwert der Ammoniakausscheidung im Urin ergab demnach folgenden Wert:

$$739 \text{ mg/24 Std.} \pm 79{,}4 \text{ mg/24 Std.} \quad (\bar{x} \pm s)$$

Ein Vergleich unserer Werte mit den Angaben anderer Autoren zum Normalbereich zeigte eine gute Übereinstimmung (s. Tab. 4).

Tab. 4)

(NH_3-N im Urin)

Autor	Normalbereich	Tagesausscheidung
1. WELLER (19)	0,4 - 0,8 g/24 Std.	1 l
2. MÜLLER-SEIFERT (31)	0,5 - 1,0 g/24 Std.	1,2 l
3. SIEGENTHALER (33)	0,42 - 0,7 g/24 Std.	1,2 - 1,5 l
4. PSCHYREMBEL (34)	0,3 - 1,2 g/24 Std.	1 - 1,5 l

IV. Krankengut - Blut.

Bei insgesamt 42 Patienten mit Erkrankungen der Leber wurden vor, während und nach therapeutischen Maßnahmen venöse Blutbestimmungen durchgeführt. Zum besseren Verständnis der hierbei ermittelten Ergebnisse haben wir unser Krankengut in 6 Gruppen unterteilt:

Patienten mit Lebererkrankungen verschiedener Genese ohne nachweisbare Leberzirrhose (Gruppe I).

Patienten mit beginnender Leberzirrhose ohne nachweisbaren portalen Hochdruck (Gruppe II).

Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (Gruppe III).

Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose und ihren Komplikationen (Varizenblutung und z.T. Coma hepaticum) (Gruppe IV).

Patienten im praecomatösen bzw. comatösen Zustand (Gruppe V), sowie

Patienten, bei denen vor und nach Anlegung eines portocavalen Shunts der venöse Blutammoniakspiegel kontrolliert wurde (Gruppe VI).

Für die Messungen wurde, sofern nicht anders vermerkt, stets 9 Uhr-Blut von nüchternen Patienten verwendet, die am Vorabend eiweißarm ernährt wurden.

Gruppe I:

Patienten mit Lebererkrankungen verschiedener Genese ohne nachweisbare Leberzirrhose.

Bei keinem dieser Patienten befand sich die Leber bereits im Stadium des zirrhotischen Umbaus. Dies konnte anhand von klinischen Befunden, blutchemischen Untersuchungen, Leberfunktionstesten sowie durch Laparoskopie und z. T. auch durch Leberblindpunktion mit anschließender histologischer Untersuchung gesichert werden.

Die venösen Blutammoniakwerte (s. Tab. 5, S. 26) liegen gegenüber unserem Normalkollektiv (s. Tab. 2, S. 20) z. T. im oberen Normbereich, z. T. etwas darüber. Es ergibt sich folgender signifikanter Unterschied der Mittelwerte: $p < 0,0005$.

Im Vergleich zu den in der Tabelle weiter aufgeführten Laborwerten zeigt sich folgendes:

Auch wenn die BSG, der Bromsulfaleintest und die Transaminasen erhöht sind und die Serumeiweißfraktionen eine gewisse Verschiebung mit Verminderung der Albumine und Vermehrung der β-Globuline aufweisen, sind die Blutammoniakkonzentrationen noch nicht deutlich erhöht. Bei diesen Lebererkrankungen ist also noch keine unmittelbare Beziehung zwischen klinischer Symptomatologie und der jeweiligen Ammoniakkonzentration im Blut erkennbar.

Tab. 5)

Gruppe I: Lebererkrankungen ohne nachweisbare Leberzirrhose.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Ges.E. g%	Alb. Rel.%	γ-Glob. Rel.%	GOT mU/ml	GPT mU/ml	APH mU/ml	BSG mm/Std.	Bili. mg%	BSP %	NH_3-N µg/100 ml	Diagnose
1	P.G.	30	m	6,9	50,5	19,5	14,1	6,7	17,6	30/50	1,4	3,0	78	alkoholische Fettleber und Cholangitis
2	V.G.	31	m	7,3	54,5	24,0	7,8	6,9	4,0	2/4	0,9	6,3	66	Fettleber
3	B.E.	60	w	7,2	61,0	20	8,4	6,3	24	27/68	0,82	4,9	57	chronische Cholecystitis und Cholangitis
4	B.H.	24	m	7,3	57	21	59	43	27	8/20	0,74	7,14	64	Cholangiohepatitis
5	N.B.	44	w	7,1	53,5	23	52	32	13	28/50	1,14	4,2	88	Cholangiohepatitis
6	H.J.	39	m	6,9	55	18,7	61	69	19	8/12	1,7	2,0	87	Hepatitis epidemica
7	F.K.	31	w	7,2	61	16	29	25	25	30/65	1,2	3,4	74	akute Cholangitis
8	L.K.	49	m	6,8	56,2	25	41	28	16	14/38	1,4	7,2	91	Stauungsleber (cardiale Insuffizienz)
9	G.M.	51	w	6,7	53,5	26	40	37	22	18/20	0,84	5,4	77	chronische Hepatitis
10	Sch.J.	56	w	7,2	62,1	17,3	27	23	12	35/80	1,3	3,2	92	chronische Cholangitis

Normalwerte:

Es werden hier die z. Zt. der Untersuchungen in den Laboratorien der I. und II. Medizinischen Klinik angegebenen Normalwerte genannt:

Gesamteiweiß:	6 - 8 g%
Albumin:	65,8 $\pm$ 4,9 Rel.% ($\bar{x} \pm s$)
γ-Globulin:	14,3 $\pm$ 2,9 Rel.% ($\bar{x} \pm s$)
APH:	0 - 36 mU/ml
GOT:	0 - 18 mU/ml
GPT:	0 - 18 mU/ml
Bilirubin:	0 - 1,4 mg%
BSG:	bis 10/15 mm normal
BSP:	bis 5% nach 45 Minuten
P.I.:	80 - 100%

Gruppe II:

Patienten mit beginnender Leberzirrhose ohne nachweisbare portale Hypertension.

Bei diesen Probanden wurde mit Hilfe der Leberblindpunktion ein bereits vorhandener knotiger Umbauprozeß aufgrund einer chronischen Entzündung nachgewiesen. Eine Druckerhöhung im Portalkreislauf als Folge dieser beginnenden Leberzirrhose konnte durch Laparoskopie und Röntgenuntersuchung des Oesophagus ausgeschlossen werden.

Vergleicht man die Laborwerte der Gruppe II (s. S.29) mit denen von Gruppe I (s. S.26), so zeigt sich keine wesentliche Änderung. Dies entspricht der klinischen Symptomatologie: der Übergang zwischen der chronischen Hepatitis und der Zirrhose ist meist unmerklich, schleichend. Ein profiliertes Symptomenbild, sowie markante Veränderungen der Laborwerte ergeben sich erst in den fortgeschrittenen Stadien, etwa wenn eine portale Hypertension oder eine Dekompensation vorliegt.

Lediglich bei den Werten der Ammoniakkonzentration im venösen Blut zeigt sich bei diesen Patienten ein auffallender Unterschied zu den Patienten der Gruppe I: sie sind mit $p < 0,0005$ deutlich signifikant erhöht. Auch gegenüber dem Normalbereich ergeben sich signifikant ($p < 0,0005$) höhere NH_3-N-Werte.

Tab. 6)

Gruppe II: Beginnende Leberzirrhose ohne nachweisbaren Hochdruck.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Ges.E. g%	Alb. Rel.%	γ-Glob. Rel.%	GOT mU/ml	GPT mU/ml	APH mU/ml	BSG mm/Std.	Bili. mg%	BSP %	NH_3-N ug/100 ml	P.I. %
1	W.Sch.	37	m	8,1	51	19,1	21	9	21	2/4	3,0	5,1	101	78
2	F.A.	41	m	7,4	56	22,3	12	9,2	13	13/20	1,5	4,3	98	69
3	G.M.	45	w	7,2	61	17,2	19,1	7,0	12,2	18/24	0,9	7,4	113	81
4	K.A.	29	m	7,4	52	21,1	18	11	19	21/33	0,74	6,0	99	74

Gruppe III:

Patienten mit kompensierter Leberzirrhose.

Es wurden 11 Patienten mit ausgeprägter Leberzirrhose im Stadium der Kompensation untersucht. Bei diesen konnte mit Hilfe der Laparoskopie festgestellt werden, daß bereits alle Teile der Leber vom zirrhostischen Umbau erfaßt waren. Dieser Befund entspricht der Definition der Leberzirrhose, wie sie auf dem panamerikanischen Kongreß für Gastroenterologie in Havanna 1956 erarbeitet wurde (53). Leberzellnekrosen, narbige Fibrose und knotige Parenchymregeneration kennzeichnen den Umbauprozeß (35). Dieser führt infolge Verödung der Sinusoide und in geringerem Maße auch durch Kompression schwachwandiger intrahepatischer Venenäste zu einer Reduktion des Gefäßbettes und damit zu einer Behinderung des venösen Abflusses (36). Hieraus resultiert ein zunächst nur geringer und klinisch nicht auffallender Druckanstieg in den portalen Gefäßen. Gleichzeitig entstehen zahlreiche arterio-venöse Shunts zwischen Ästen der v. portae und den vv. hepaticae, die eine gewisse Verminderung der Leberdurchblutung zur Folge haben (37).

Das oben beschriebene Krankheitsbild wird also einerseits durch eine Reduzierung des funktionstüchtigen Leberparenchyms, andererseits durch eine pathologisch veränderte intra- und praehepatische Hämodynamik chrakterisiert (38).

Für die Labordiagnostik der kompensierten Zirrhose sind vor allem kennzeichnend: der positive Ausfall der Bromsulfaleinprobe, sowie die charakteristischen quantitativen Veränderungen der Serumeiweißfraktionen und des verminderten Prothrombinindex,

beides als Ausdruck einer gewissen Einschränkung der Eiweißsyntheseleistung der Leber (s. S. 32). Die Transaminasenaktivitäten sind dagegen in der Regel nur geringfügig erhöht, reagieren aber mit deutlichem Anstieg, wenn ein akut nekrotischer Schub vorliegt.

Die gemessenen Ammoniakkonzentrationen sind bei diesen Patienten gegenüber unserem Normalkollektiv etwa auf das Doppelte angestiegen. Hier liegt also bereits eine eingeschränkte Ammoniakentgiftungsfunktion infolge Leberzellschädigung vor.

Bei diesen 11 Patienten beträgt der Mittelwert der NH_3-N-Konzentrationen 151,1 $\pm$ 8,6 µg/100 ml und liegt somit eindeutig höher ($p < 0,0005$) als bei Lebergesunden. Gegenüber dem Mittelwert der Gruppe II (102,8 $\pm$ 6,0 NH_3-N µg/100 ml und der Gruppe I (77,4 $\pm$ 11,6 NH_3-N µg/100 ml) ist er ebenfalls signifikant ($p < 0,0005$) erhöht.

Tab. 7)

Gruppe III: kompensierte Leberzirrhose.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Ges.E. g%	Alb. Rel.%	γ-Glob. Rel.%	GOT mU/ml	GPT mU/ml	APH mU/ml	BSG mm/Std.	Bili. mg%	BSP %	NH_3-N µg/100 ml	P.I. %
1	C.E.	55	w	7,37	41	38	24	20	48	20/58	0,23	16,9	161	56
2	L.E.	52	w	6,9	47	34	11	8,3	19	17/44	0,5	13	150	65
3	L.K.	43	w	6,26	44,1	40	13,4	17,5	8	18/40	0,68	10,1	161	67
4	P.R.	35	m	7,1	43	38	14,1	18,3	10,4	15/38	0,47	11,4	155	71
5	K.S.	19	m	6,3	48	37	21,2	24	8,2	20/48	1,6	21,2	143	64
6.	Sch.F.	33	m	7,3	49	36	20,4	17,5	8,4	25/54	0,75	14,0	141	66
7	W.G.	47	m	7,1	40	37	27,2	28	7,6	25/60	0,5	19,4	139	61
8	E.P.	45	m	7,6	48,5	32	24,1	12,5	29	14/39	0,34	7,0	140	74
9	W.F.	50	m	7,4	39	40	46,5	10,4	46	16/42	0,96	18,3	154	59
10	R.J.	56	m	6,9	47	44	22	19,2	39	18/46	1,57	24,0	162	58
11	V.J.	40	m	9,3	42	32	21	8,0	9,3	58/70	0,7	12	156	67

Gruppe IV:

Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose und ihren Komplikationen (Varizenblutung, Coma hepaticum).

Im Stadium der Leberdekompensation bestimmt der Pfortaderhochdruck mit seinen unmittelbaren Folgen das Krankheitsbild (39). Dabei kommt es als Zeichen beginnender vaskulärer Dekompensation zur Ausbildung von portocavalen Umgehungskreisläufen, von denen die Oesophagusvarizen klinisch am bedeutsamsten sind. Bei unseren Patienten wurden sie röntgenologisch bzw. endoskopisch nachgewiesen.

Gleichzeitig ist in vielen Fällen ein schwerer Ascites vorhanden. Für die Entstehung ist zum einen die portale Hypertension ursächlich, die eine Erhöhung des hydrostatischen Drucks im Pfortadersystem bewirkt, zum anderen die Hypalbuminämie, die eine Verminderung des onkotischen Drucks im Plasma bedeutet, beteiligt (36). Letztere beruht auf einer eingeschränkten Albuminsyntheseleistung als Ausdruck einer akuten Leberzellinsuffizienz. Der Ascites zeigt also eine vaskuläre wie parenchymatöse Dekompensation an.

Die Patienten dieser Gruppe hatten alle bereits eine Blutung aus nachgewiesenen Oesophagusvarizen überstanden. Bei den Patienten B.A., N.A. und Ch. M. lag zusätzlich noch ein Ascites vor.

Die Oesophagusvarizenblutung gilt als folgenschwerste Komplikation, denn es droht der Tod durch Verbluten bzw. das Coma

hepaticum. Symptome eines beginnenden Comas zeigten die Patienten B.A., N.A. und B.F. Ihre klinisch noch relativ geringfügige Beeinträchtigung der Bewußtseinslage war bereits durch Veränderungen im EEG gekennzeichnet.

Beginnendes Coma hepaticum bzw. beginnende portale Encephalopathie (40) ist als Folge der zusammenbrechenden Leberfunktion auf eine Anhäufung toxischer Stoffwechselprodukte in der Blutbahn zurückzuführen. Diese gelangten über die Blut-Liquorschranke in das Gehirn und verursachen so psychische und neurologische Veränderungen (41).

MARTINI et al. (42) teilen die portale Encephalopathie gemäß der Schwere der Bewußtseinsstörung in drei Stadien ein:

Stadium I	:	leichter Verwirrtheitszustand
Stadium II	:	(Präcoma) Erregungszustände, Tremor, grobe intellektuelle Ausfälle.
Stadium III	:	(Coma) tiefe Bewußtlosigkeit.

Danach sind die drei Patienten B.A., N.A. und B.F. dem Stadium I zuzuordnen.

Die Erstbestimmung des venösen Ammoniakspiegels erfolgte bei allen Patienten ein bis zwei Tage nach der Oesophagusvarizenblutung. Bei den Patienten B.A., L.W., N.A. und Ch.M. wurde die Ammoniakkonzentration im wöchentlichen Abstand dreimal gemessen.

Die hohen Blutammoniakwerte bei der Erstbestimmung beruhen auf einer Überschwemmung des Darmtraktes mit Blut und damit mit stickstoffhaltigen Substanzen. Daher wurde den Kranken in einer einmaligen Dosierung 1000 ml Rocmaline, eine Arginin-Aspartat-Lösung, verabreicht. Daraufhin sanken die Ammoniakwerte in der zweiten Woche bei allen bis nahe den Normalbereich, während sie in der 3. Woche ohne Medikation über die Ausgangswerte hinaus angestiegen waren.

Die neurologisch-psychischen Symptome bei den Patienten B.A. und N.A. veränderten sich entsprechend den Meßwerten: Nach einer kurzen Aufhellung (2. Woche) aus dem Verwirrtheitszustand (1. Woche) verfielen die Patienten in der 3. Woche in einen präcomatösen Zustand (Stadium II).

Bei dem Patienten B.F. wurde in einer Testreihe der therapeutische Effekt von Rocmaline auf den Blutammoniakspiegel untersucht. Die Messungen erfolgten an 6 aufeinanderfolgenden Tagen. Jeden Tag wurde stets um 9 Uhr nach einer Nüchternblutkontrolle im Zeitraum von 3 Stunden 500 ml Rocmaline (= 30 g Arginin-Aspartat in 500 ml Ringerlösung) infundiert. Nachmittags um 16 Uhr wurde dann eine weitere Messung durchgeführt. Während der Untersuchungstage erhielt der Patient normale Leberdiät.

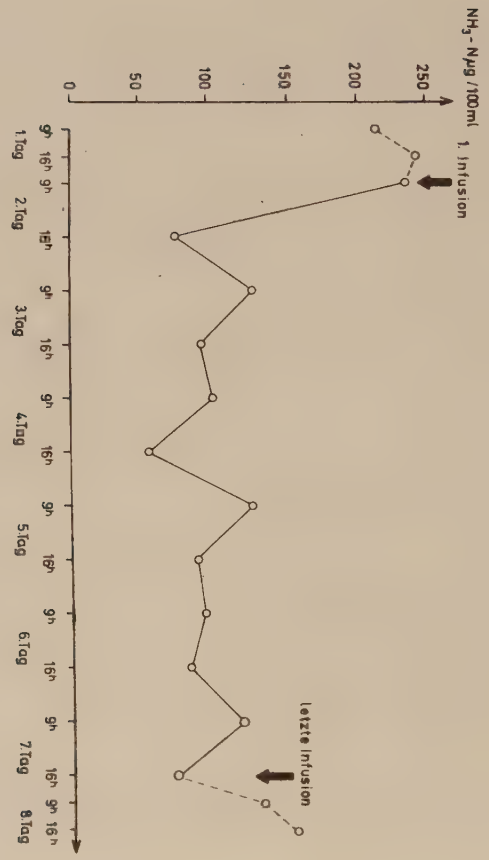


Abb. 7)

Blutammoniakwerte eines Patienten (B.F.), die 8 Tage lang vor (9^h) und nach (16^h) Gabe von Rocmaline gemessen wurden.

Wie aus der Abb. 7 ersichtlich, wurde lediglich eine vorübergehende Ammoniaksenkung erreicht. Bereits bei den morgendlichen Kontrollen des darauffolgenden Tages waren die Werte wieder erhöht. Dieses Ergebnis wird von ESSER (43) bestätigt.
Die Hirnfunktionsstörungen gingen mit der Höhe der Ammoniakkonzentration parallel.

In der Tabelle 8 (s. S. 37) sind außer den Blutammoniakwerten noch die wichtigsten Parameter der Labordiagnostik für das Krankheitsbild der fortgeschrittenen dekompensierten Leberzirrhose mitaufgeführt. Besonders kennzeichnend sind der stets positive Ausfall der Bromsulfaleinprobe, das Vorhandensein eines Ikterus und der deutlich verminderte Quickwert. Die γ-Globuline erreichen Höchstwerte, verglichen mit denen bei kompensierter Leberzirrhose und im Coma hepaticum. Dieses Ergebnis bestätigen auch andere Autoren (41 , 44).

Der mittlere venöse Ammoniakwert beträgt bei diesen fünf Patienten 194,0 ± 56,7 µg/100 ml und liegt somit signifikant ($p < 0,0005$) über dem Wert der Lebergesunden und dem der Patienten der Gruppe I - III.

Tab. 8)

Gruppe IV: Dekompensierte Leberzirrhose mit Komplikationen.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Ges.E. g%	Alb. Rel.%	δ-Glob. Rel.%	GOT mU/ml	GPT mU/ml	APH mU/ml	BSG mm/Std.	Bili. mg%	BSP %	P.I. %	NH_3-N µg/100 ml		Bemerkungen
1	B.A.	28	m	6,9	45	51	9,7	6,9	49,2	44/89	4,2	26	48	194	1. Woche	Rocmaline (1000 ml)
														98	2. Woche	Ascites, EEG (+)
														220	3. Woche	
2	L.W.	51	m	7,1	40,3	40	18	6,6	53,4	26/40	1,7	19,1	39	173	1. Woche	Rocmaline (1000 ml)
														78	2. Woche	
														196	3 Woche	
3	N.A.	49	m	7,0	44,9	48	10,5	17,9	28,3	23/59	3,4	31,0	62	204	1. Woche	Rocmaline (1000 ml)
														125	2. Woche	Ascites, EEG (+)
														211	3. Woche	
4	Ch.M.	35	m	6,9	48,1	39,4	14,0	12,1	19,4	95/133	2,1	18,2	53	185	1. Woche	Rocmaline (1000 ml)
														90	2. Woche	Ascites
														199	3. Woche	
5	B.F.	59	m	6,9	46,2	41	11,2	16,4	26,0	18/42	1,9	28,4	56	214		EEG (+)
														245		Rocmalineinfusionen
														236		1. Tag
														79		
														134		2. Tag
														98		
														105		3. Tag
														48		
														135		4. Tag
														93		
														100		5. Tag
														88		
														126		6. Tag
														74		letzte Infusion
														141		
														165		
														150		

Gruppe V:

Patienten im präcomatösen bzw. comatösen Zustand.

Die Patienten dieser Gruppe befanden sich alle, im Gegensatz zu denen der Gruppe IV, bereits zu Beginn der Blutammoniakmessungen in einem präcomatösen bzw. comatösen Zustand, gemäß der Einteilung von MARTINI (vgl. S. 34) also im Stadium II bzw. im Stadium III. Hierbei handelt es sich um ein exogenes Lebercoma oder Leberausfallcoma im Verlauf einer Leberzirrhose. Davon zu unterscheiden ist das endogene Lebercoma oder Zerfallscoma, das meist im Verlauf einer schweren Hepatitis oder nach Intoxikation auftritt. Beim Leberausfallcoma steht der fast regelmäßige Anstieg des Blutammoniaks im Vordergrund. Dieser kommt durch arterio-venöse Anastomosen oder nach portocavalen Shuntoperationen zustande, wobei schließlich eine portale Encephalopathie entstehen kann (48). Die toxische Schädigung des Gehirns zeigt sich im EEG in einer Verlangsamung des Hirnwellenbildes.

Folgende Faktoren waren bei unseren Probanden Ursache des Ausfallcomas: in zwei Fällen (St.J. und W.E.) eine rezidivierende Oesophagusvarizenblutung und in zwei weiteren (K.F. und F.H.) eine portocavale Shuntoperation. In einem Fall (G.J.) ist ein Zusammenhang mit der Ascitespunktion nicht auszuschließen.

Drei Patienten (St.J., K.F., F.H.) befanden sich bereits zu Beginn der Messungen in einem comatösen Zustand. Die anderen beiden (G.J. und W.E.) gerieten im Verlauf der Untersuchungen in dieses fortgeschrittene Krankheitsstadium.

Die gemessenen Blutammoniakwerte liegen gegenüber denen der Lebergesunden und denen der Gruppe I und II signifikant ($p < 0,0005$)

erhöht. Gegenüber den Werten der Gruppe III und IV ist jedoch keine Signifikanz erkennbar.

Bei allen fünf Patienten wurden 3 bis 7 Blutammoniakbestimmungen in einem zeitlichen Abstand von 1 bis 2 Tagen durchgeführt.

Die beiden Patienten im präcomatösen Zustand (G.I. und W.E.) zeigten bei der Erstbestimmung ebenso hohe Ammoniakwerte wie die im comatösen Zustand befindlichen Patienten (St.J. und F.H.). Ihr geistiger Verwirrtheitszustand und der Flattertremor entsprachen aber erst dem Stadium II der portalen Encephalopathie. Die Ammoniakwerte stiegen bis zu den nächsten Messungen erheblich an und gleichzeitig nahm die Bewußtseinstrübung bis zur tiefen Bewußtlosigkeit zu. Insoweit zeigte sich eine gewisse Parallelität zwischen Blutammoniakkonzentrationen und klinischer Symptomatologie.

Die anderen drei Kranken (St.J., K.F. und F.H.) befanden sich zu Beginn der Meßreihe in einem comatösen Zustand gemäß Stadium III und zeigten in zwei Fällen (St. J. und F.H.) auch entsprechend hohe Ammoniakwerte. Der dritte Patient (K.F.) zeigte nach wiederholten Messungen im Abstand von einem Tag stets normale Ammoniakwerte und befand sich dabei in einem Coma hepaticum mit tiefer Bewußtlosigkeit.

Diese auch von anderen Autoren (45 - 47) in Einzelfällen gefundene Diskrepanz zwischen Blutammoniakwert und Krankheitsbild spricht dafür, daß der Ammoniakspiegel nicht die einzige Ursache für das Zustandekommen der portalen Encephalopathie ist. Daneben sind auch andere Metaboliten wie freie Phenole, intrazelluläre p_H-Verschiebungen und Störungen des Elektrolythaushaltes von Bedeutung (48).

Zur Comabehandlung wurden folgende ammoniaksenkende Substanzen verabreicht:

1. Antibiotika (Neomycin per os), um die Entstehung von Ammoniak und anderen toxischen Proteinmetaboliten im Darm zu vermindern.
2. Ein Gemisch aus Arginin und Aspartat (= Rocmaline, intravenös verabreicht) zur Überführung des Ammoniaks in den Krebszyklus und somit zur Ausscheidung als Harnstoff.

Die oben angewandte Therapie führte jedoch nur bei drei Patienten (G.I., F.H. und W.E.) zu einer vorübergehenden Senkung der Ausgangswerte. Eine Beeinflussung der Bewußtseinsstörung konnte nicht mehr erreicht werden. Alle fünf Patienten starben infolge des Leberausfallcomas.

Als augenblicklich beste Therapie wird die Kombination von Neomycin und Lactulose, einem Disaccharid aus Galactose und Fructose, empfohlen (49, 50).

Tab. 9)

Gruppe V: Präcoma und Coma hepaticum.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	NH_3-N /ug/100 ml	Bemerkungen	
1	G.I.	53	w	188	Rocmaline (1000 ml)	1. Tag
				152	(Präcoma, Stadium II)	3. Tag
				291		5. Tag
				305		
2	St.J.	59	m	219	(Coma, Stadium III)	1. Tag
				236	je 500 ml	3. Tag
				280	Rocmaline	5. Tag
				309		7. Tag
				323		9. Tag
3	K.F.	63	m	63	(Coma, Stadium III)	1. Tag
				78	je 500 ml	2. Tag
				63	Rocmaline	3. Tag
4	F.H.	55	m	210	(Coma, Stadium III)	1. Tag
				221	Rocmaline 500 ml	3. Tag
				283	" " "	5. Tag
				186		7. Tag
				156		9. Tag
				200		11. Tag
				328		13. Tag
5	W.E.	62	m	190	(Coma, Stadium II)	1. Tag
				165	Rocmaline 500 ml	2. Tag
				250		4. Tag
				289		5. Tag

Gruppe VI:

Patienten, bei denen der Blutammoniakspiegel vor und nach Anlegung eines porto-cavalen Shunts kontrolliert wurde.

Die acht Leberzirrhosekranken dieser Gruppe hatten infolge eines ausgedehnten Spontanshunts mindestens eine Varizenblutung überstanden. Um weitere Blutungen zu vermeiden, wurde im blutungsfreien Intervall als therapeutische Maßnahme eine portocavale Anastomose angelegt. Diese Operationsmethode hat sich in den letzten 10 - 15 Jahren in der Pfortaderchirurgie zur Behandlung von Oesophagusvarizenblutungen bewährt. Der Vorteil dieser Operation liegt in der drucksenkenden Wirkung auf das portale Gefäßsystem, wodurch im Vergleich zu anderen Operationsmethoden wie die Umstechung der blutenden Varizen, die Dissektionsligatur nach VOSS-SCHULTE oder die Wandsklerosierung des Oesophagus, ein ausreichender Blutungsschutz gewährt wird (51, 52).

Die Shuntoperation wurde nur dann durchgeführt, wenn folgende drei Kriterien erfüllt waren:

- guter Allgemeinzustand;
- ausreichende Leberfunktion: d.h. nach überstandener Blutung muß sich die Leber wieder im Stadium der Kompensation befinden. Hierfür ist eine sogenannte Parenchymreserve (53) erforderlich. Folgende Laborwerte waren gemäß den Empfehlungen anderer Autoren unbedingt einzuhalten (52, 54, 55):

  Serumbilirubin: nicht über 1,5 mg%,
  Bromsulfaleintest: weniger als 25% Retention nach 45 Minuten.
  Transaminasen: nicht über 20 mU

Quickwert: nicht unter 60%.

Albumin: mehr als 3 g%.

Ein zum Zeitpunkt der Operation vorliegender Ascites als Zeichen der Dekompensation erhöht nämlich die postoperative Letalität durchschnittlich bis zu 50%, während Patienten mit noch ausreichender Leberfunktion lediglich eine postoperative Letalität von 10% aufweisen (54).

- Keinerlei anamnestische Zeichen einer portalen Encephalopathie oder eines Coma hepaticums.

Vor der Operation wurden drei Messungen der Blutammoniakkonzentration durchgeführt. Da die Patienten bei der Erstmessung teilweise stark erhöhte Werte aufwiesen, wurde durch Verabreichung von Rocmaline (2 x 500 ml) versucht, bis zum angesetzten Operationstermin den Ammoniakspiegel kurzfristig zu senken, was auch in allen Fällen gelang.

Postoperativ stiegen die Ammoniakwerte bis zu den Ausgangswerten oder sogar darüberhinaus wieder an. Dies läßt sich folgendermaßen erklären: ein operativ angelegter Shunt führt zu einer weiteren Verminderung der Leberdurchblutung und damit zu einer zusätzlichen Einschränkung der Leberentgiftungsfunktion. Dennoch wird dieser postoperative Leistungsabfall der Leber meist relativ gut toleriert, da die Leberzellen bereits vor dem Eingriff infolge des ausgedehnten Kollateralkreislaufs weniger Pfortaderblut erhalten und diese mangelhafte Zufuhr zum Teil arteriell kompensiert wird (55).

Tab. 10)

Gruppe VI: Vor und nach Anlegung eines porto-cavalen Shunts.

Nr.	Name	Alter	Geschl.	NH_3-N /ug/100 ml	Bemerkungen	
1	B.A.	50	m	154	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				178		2. Tag
				101		3. Tag
				222	post op. (EEG +)	4. Tag
				148		5. Tag
				136		6. Tag
2	K.J.	38	m	172	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				156		2. Tag
				93		3. Tag
				160	post op.	4. Tag
				193		5. Tag
				138		6. Tag
3	K.H.	48	m	188	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				129	(EEG +)	2. Tag
				97		3. Tag
				179	post op.	4. Tag
				140		5. Tag
				126		6. Tag
4	N.H.	40	m	251	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				162		2. Tag
				95		3. Tag
				106	post op.	4. Tag
				125		5. Tag
				149		6. Tag
5	Sch.B.	15	w	159	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				112		2. Tag
				90		3. Tag
				184	post op.	4. Tag
				110		5. Tag
				230	(Leberausfallcoma)	6. Tag

zu Gruppe VI:

Nr.	Name	Alter	Geschl.	NH_3-N /ug/100 ml	Bemerkungen	
6	W.M.	56	w	169	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				99		2. Tag
				81		3. Tag
				121	post op.	4. Tag
				141		5. Tag
7	D.M.	52	w	183	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				161		2. Tag
				134		3. Tag
				198	post op.	4. Tag
				212		5. Tag
				227	(Leberausfallcoma)	6. Tag
8	H.F.	54	m	162	Rocmaline (2x 500 ml)	1. Tag
				107		2. Tag
				179	post op.	3. Tag
				147		4. Tag
				134		5. Tag

In der Folgezeit gingen die Meßwerte zwar nicht bis zum Normalbereich zurück, konnten aber durch Verabreichen von Rocmaline bei sechs Patienten auf ein erträgliches Maß gesenkt werden. Zwei Patienten (Sch.B. und D.M.) starben nach dem Eingriff infolge eines Leberausfallcomas.

Bei dieser Patientengruppe beträgt der Mittelwert der Erstmessungen $180,0 \pm 29,0$ NH_3-N/ug/100 ml und liegt somit eindeutig höher als bei Lebergesunden ($p < 0,0005$), bei Patienten der Gruppe I ($p < 0,0005$), bei Patienten der Gruppe II ($p < 0,0005$) und bei Patienten der Gruppe III ($p < 0,005$). Gegenüber dem Mittelwert der Gruppe IV beziehungsweise V ist er jedoch nicht signifikant erhöht.

Zwei Patienten (B.A. und K.H.) zeigten postoperativ periodische Zustände von Verwirrtheit, die dem in der Gruppe V beschriebenen Stadium I der portalen Encephalopathie zuzuordnen sind. MC DERMOTT und ADAMS (3) nennen diesen Zustand "episodic stupor". Die Pathogenese dieser Störungen entspricht der des Leberausfallcomas. KALK und WILDHIRT (56) haben bei etwa 40% der operierten Patienten psychische Komplikationen beobachtet, doch bestand bei nur 15% eine Störung größeren Ausmaßes.

Vor einer Shuntoperation muß also einerseits das Risiko des Eingriffes und die Gefahr der portocavalen Encephalopathie nach der Operation, andererseits die Gefahr einer weiteren Blutung bzw. Verblutung gegeneinander abgewogen werden.

V. Krankengut - Urin.

Bei 12 nierentransplantierten Patienten und 3 einseitig nephrektomierten Kontrollpersonen (Lebendspender bzw. einseitig Nephrektomierte nach Hypernephrom) wurde die Ammoniakausscheidung im Urin unter verschiedenen Stoffwechselbedingungen mit der modifizierten Versuchsanordnung für die Ammoniakbestimmung im Urin (s.S. 6) ermittelt.

Die uns hierzu freundlicherweise von der I. Medizinischen Klinik zur Verfügung gestellten Patienten zeigten meist eine ausreichende Nierentätigkeit. Dies läßt sich am normalen Harnstoff- und Kreatininplasmaspiegel ablesen (s.Tab. 11).

Von der I. Medizinischen Klinik wurde an diesen Patienten der pathogenetische Mechanismus postoperativ häufig auftretender renal-tubulärer Azidose untersucht (57).

Die metabolisch-azidotische Stoffwechsellage ist allgemein durch einen erhöhten Anfall saurer Valenzen im Blut bedingt und - als Folge der Abpufferung - durch einen verminderten Plasmabicarbonatspiegel gekennzeichnet. Das hierdurch zwangsläufig vermehrt anfallende CO_2 wird respiratorisch kompensiert.

Auch für die renal-tubuläre Azidose ist ein verminderter Plasmabicarbonatspiegel kennzeichnend (33). Für den renalen Bicarbonatverlust wird eine Störung der Rückresorption im proximalen Tubulus vermutet (57), während bisher in der Literatur für die renal-tubuläre Azidose ausschließlich eine Störung im distalen Tubulus angegeben wurde (33, 58 - 60).

Zur genaueren Aufklärung des pathogenetischen Mechanismus

wurden die nierentransplantierten Patienten zwei verschiedenen Belastungsproben unterzogen. Mit Hilfe dieser Versuche wurde die Funktionstüchtigkeit einerseits des proximalen Tubulus und andererseits des distalen Tubulus untersucht (57).
Gemäß diesen Testreihen unterteilen wir unser Krankengut in folgende zwei Gruppen:

- Patienten, bei denen Verlaufskontrollen unter zunehmender Belastung mit Bicarbonat vorgenommen wurden (Gruppe I),

- Patienten, denen Ammoniumchlorid verabreicht wurde (Gruppe II).

Die Laborwerte dieser Probanden wurden im Rahmen einer stationären Kontrolluntersuchung erstellt.

Weiterhin wurde bei einer Gruppe von Patienten zur Ergänzung der Laborwerte einer ambulanten Kontrolluntersuchung die Ammoniakausscheidung im Morgenurin und vergleichsweise die Ammoniakkonzentration im Blut bestimmt (Gruppe III).

Für uns ergaben diese Untersuchungen eine gute Möglichkeit, die klinische Brauchbarkeit der Ammoniakbestimmung im Urin und zum Teil im Blut der Nierentransplantierten zu überprüfen. Es war dabei von vornherein klar, daß durch die zwangsläufig recht kleine Zahl von Untersuchungen diese Ergebnisse keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben konnten. Andererseits erscheinen sie als Hinweis auf die klinische Anwendungsmöglichkeit dieser Methode ausreichend.

Gruppe I:

Belastungsversuch mit Bicarbonat (Tab.11).

Vier Nierentransplantierte und zwei einseitig nephrektomierte Kontrollpersonen wurden einer Bicarbonatbelastung unterworfen. Der Zeitpunkt der Transplantation bzw. der Nephrektomie lag unterschiedlich lange, zwischen 1 und 32 Monaten, zurück.

Als vergleichende Kontrollpersonen wurden einseitig Nephrektomierte gewählt, um Meßwerte unter vergleichbaren Versuchsbedingungen zu gewinnen, d.h. vollständige Funktion nur einer gesunden Niere. Eine Kontrollperson hatte als Lebendspender ihre Niere zur Verfügung gestellt, bei der zweiten war wegen eines Hypernephroms eine Nephrektomie vorgenommen worden.

Drei der Patienten zeigten, am normalen Harnstoff- und Kreatininplasmaspiegel (9 - 25 mg% bzw. 1 - 1,5 mg% als Normalbereich) (33) abgelesen, eine ausreichende Nierentätigkeit. Bei dem vierten Patienten (K.R.) ist die Funktionstüchtigkeit der Niere deutlich eingeschränkt, was auf den länger zurückliegenden Transplantationstermin zurückgeführt werden muß.

Mit einem auf 18 - 21 mval/l erniedrigten Plasmabicarbonatspiegel weisen die vier nierentransplantierten Patienten gegenüber dem Normalbereich (22 - 28 mval/l) (34) deutlich das Merkmal einer renal-tubulären Azidose auf. Die Kontrollpersonen liegen mit 25 mval/l dagegen durchaus im Normalbereich.

Bezüglich der Pathogenese der renal-tubulären Azidose vermutet man, wie bereits erwähnt, eine Störung der Bicarbonatrück-

resorption im proximalen Tubulus. Während drei Patienten nur eine geringfügige Abweichung der Rückresorption von dem bei unseren Kontrollpersonen ermittelten Normalwert von 99,98 % aufweisen (vergleiche Werte der Vorperiode), zeigt der vierte Patient (G.A., Tab. 11) eine verminderte Bicarbonatrückresorption. Unter steigender Belastung des Stoffwechsels mit Bicarbonat wurde das Rückresorptionsvermögen des proximalen Tubulus untersucht, um nachzuprüfen, ob die Störung hier lokalisiert ist.

Den Patienten wurde keine spezielle Diät verabreicht. Während des Belastungsversuches nahmen die Patienten keine Nahrung zu sich. Die Trinkmenge war frei.

Das Glomerulumfiltrat wurde mit Hilfe der Inulinclearance ermittelt: die Patienten erhielten initial eine Stoßinjektion einer konzentrierten Inulinlösung. Anschließend wurde ihnen zur Aufrechterhaltung eines konstanten Plasmaspiegels intravenös eine schwächer konzentrierte Inulinlösung (1 %ig) mit einer Laufgeschwindigkeit von 2 ml/min. infundiert.

In 20-minütigen Clearanceperioden wurde der Urin mittels eines Verweilkatheters gesammelt; jeweils zum Ende dieser Perioden wurde eine Blutprobe dem Ohrläppchen entnommen. Nach der ersten Clearanceperiode, die der Bestimmung der Ausgangswerte diente, wurde bei jedem Probanden eine 4 %ige Natriumbicarbonatlösung in unterschiedlichen Mengen (Laufgeschwindigkeiten von 2 - 15 ml/min. ansteigend) infundiert, so daß sich also der Plasmabicarbonatspiegel hierbei von Infusionsperiode

zu Infusionsperiode stufenweise erhöhte. Vor jeder Clearanceperiode wurde eine Äquilibrierungszeit von 20 Minuten eingehalten.

Im Urin wurde jeweils der P_H-Wert mit einer P_H-Elektrode und die Gesamtkonzentration an CO_2 nach VAN SLYKE volumetrisch gemessen. Nach der HENDERSON-HASSELBALCH-Gleichung wurde unter Berücksichtigung eines Löslichkeitskoeffizienten $\alpha_{CO_2} = 0,03$ aus den beiden Meßwerten die Bicarbonatkonzentration im Urin errechnet. Hieraus wurde mit Hilfe der Plasmabicarbonatkonzentration die Bicarbonatrückresorption ermittelt.

Im Rahmen dieses Bicarbonatbelastungstestes wurde die Ammoniakausscheidung im Urin untersucht, um möglicherweise weitere Kriterien zur Beurteilung einer renal-tubulären Azidose zu gewinnen.

Tab. 11)

Gruppe I: Bicarbonatbelastung.

Name	Alter	Geschl.	Untersuchungstermin	Urinwerte						Plasmawerte					HCO_3-Resorption
				GFR ml/min.	U_{PH}	titr.Ac. mval/l	U_{NH_3}-N µg/ml	$\dot{V}$ ml/min.	U_{NH_3}-N µg/min.	U_{NH_3}-N g/24 Std.	P_{PH}	P_{HCO_3}- mval/l	Harnstoff-N mg%	P-Kreatinin mg%	%
K.F.	40	m	1 Mo.n.Tr. Vorperiode	90,4	6,37	18,2	312	2,0	624	0,898	7,44	21	21	1,25	99,58
			Belastung	107,4	6,82	-	235	2,4	564	0,812	7,44	23			98,10
				73,9	7,01	-	160	3,3	528	0,760	7,45	24			96,30
				84,3	7,63	-	114	3,8	433	0,624	7,52	29			88,50
				76,1	7,75	-	96	4,0	384	0,553	7,46	33			
R.E.	28	m	3 Mo.n.Tr. Vorperiode	37,1	5,82	8,8	296	1,65	488	0,704	7,33	18,4	24	1,45	99,54
			Belastung	32,6	6,07	5,2	185	1,65	305	0,439	7,34	19,0			98,30
				38,1	5,93	7,8	115	1,55	178	0,256	7,39	20,6			99,68
				39,2	6,17	6,8	80	1,60	120	0,184	7,42	22,5			99,32
K.R.	35	w	1 J.u.4 Mo. n.Tr. Vorperiode	26,4	5,35	23,8	260	1,94	563	0,689	7,31	26,3	38	2,6	99,94
			Belastung	22,5	5,55	17,6	184	1,75	322	0,449	7,34	21,5			99,92
				21,4	6,49	5,2	122	170	207	0,298	7,39	26,0			98,77
				21,5	7,56	2,2	96	1,89	181	0,261	7,48	30,3			90,10
G.A.	46	w	3 Mo.n.Tr. Vorperiode	42,3	6,17	3,1	293	2,1	615	0,886	7,39	20,5	22	1,25	97,89
			Belastung	40,6	6,15	2,6	206	2,1	412	0,624	7,40	19,5			97,00
				40,2	6,18	2,0	170	2,0	357	0,490	7,40	21,5			95,68
				41,2	6,30	2,7	104	2,0	206	0,299	7,43	23,9			96,60
K.M.	42	w	1 Mo.n.Nephr. Vorperiode	83,3	5,85	15,2	482	0,97	533	0,466	7,45	25,0	31	1,12	99,97
			Belastung	79,2	5,81	22,2	356	0,97	511	0,448	7,46	25,0			99,99
				81,6	6,04	15,8	252	1,17	384	0,434	7,48	27,7			99,98
				79,8	7,01	8,2	185	1,54	265	0,382	7,56	32,8			99,87
B.J.	56	m	2 J.u.2 Mo. n.Nephr. Vorperiode	90,0	5,66	-	610	0,8	386	0,527	7,44	24,9	19	1,03	99,98
			Belastung	72,2	5,81	-	454	0,8	363	0,513	7,45	25,1			99,97
				81,4	6,10	-	279	1,2	335	0,482	7,45	25,6			99,89
				78,6	6,34	-	182	1,6	291	0,430	7,48	26,2			99,90

Das Harnzeitvolumen zeigt bei dem Patienten K.F. und den beiden Kontrollpersonen K.M. und B.J. trotz hoher Infusionsraten nur eine 2 1/2-fache Steigerung. Die Harnminutenvolumina der anderen drei Patienten R.E., K.R. und G.A. weisen demgegenüber eine abfallende Tendenz auf. Dieser Befund entspricht durchaus der Erwartung, wenn man in Betracht zieht, daß eine dreifach hypertone Lösung (57) infundiert wurde. Diese stimuliert die ADH-Ausschüttung und somit die renale Wasserresorption dahingehend, daß bei konstantem GFR das Harnminutenvolumen trotz der hohen Infusionsraten nur geringe Veränderungen aufweist.

Betrachtet man nun die Werte der Ammoniakausscheidung im Urin (Tab. 11), so zeigt sich bei allen Probanden, daß mit zunehmender Erhöhung der Pufferkapazität des Blutes durch exogene Zufuhr von Bicarbonat die Ammoniakausscheidung im Urin abnimmt.

Die nephrektomierten Kontrollpersonen zeigen vor der Bicarbonatbelastung Werte der Ammoniakausscheidung, die unter der unteren Grenze unseres Normbereiches (0,61 - 0,85 NH_3-N g/ 24 Std.) liegen. Die nierentransplantierten Patienten hingegen weisen hier normale bzw. erhöhte Meßwerte auf. Während der Belastung nimmt dann bei beiden Gruppen die Ammoniakausscheidung im Urin ab. Desgleichen weisen erhöhter Urin-P_H und erniedrigte titrierbare Azidität auf eine verminderte Ausscheidung saurer Valenzen hin. Die durch die Infusion ausgelöste metabolische Alkalose wird also von Nierentransplantatträgern, wie auch von den als Kontrollpersonen dienenden einseitig Nephrektomierten, in gleicher Weise korrigiert.

Gruppe II:

Belastungsversuch mit Ammoniumchlorid (Tab. 12).

Bei zwei weiteren nierentransplantierten Patienten wurde ein Belastungsversuch mit Ammoniumchlorid durchgeführt. Die Transplantation lag 1 bzw. 16 Monate zurück.
Bei dem Patienten, bei dem die Transplantation erst einen Monat zuvor durchgeführt worden war, weisen die Plasmakonzentrationen von Harnstoff und Kreatinin auf eine ausreichende Funktionstüchtigkeit der Niere hin. Der zweite Patient, bei dem der Transplantationstermin wesentlich länger zurücklag, zeigt demgegenüber eine bereits deutlich eingeschränkte Nierenfunktion.

Bei beiden Patienten deutet der verminderte Plasmabicarbonatspiegel auf eine renal-tubuläre Azidose hin. Während der eine Wert nur geringfügig unter der unteren Grenze des Normbereiches liegt, zeigt der andere Wert eine deutliche Verminderung.

In dem Belastungsversuch mit Bicarbonat (Gruppe I) zeigte sich bei den vier nierentransplantierten Patienten, daß die Bicarbonatrückresorption im proximalen Tubulus bei einer Erhöhung des Plasmabicarbonatspiegels während der Bicarbonatbelastung bereits mehr oder minder stark erniedrigt ist gegenüber unserem Normalwert von 99,98 % (s.Kontrollpersonen, Tab. 11).

Nachdem sich also die renal-tubuläre Azidose auf Grund dieser Ergebnisse auf eine Störung zumindest der proximalen Tubulusfunktion zurückführen ließ (57), sollte überprüft werden, ob eine zusätzliche Störung im distalen Tubulus vorliegt. Dazu wurden die Patienten einer Belastung mit Ammoniumchlorid unterzogen,

um zu untersuchen, inwieweit der Urin unter azidotischer Stoffwechsellage im distalen Tubulus angesäuert werden kann. Für den Fall, daß eine distal-tubuläre Störung vorliegt, wäre zu erwarten, daß der Urin-P_H bei vermehrter exogener Zufuhr saurer Valenzen in Form des schwach sauren Ammoniumchlorids nicht unter 5,4 (33) absinkt.

Zur maximalen Ansäuerung des Urins wurde den Patienten drei Tage lang je 6 g Ammoniumchlorid (Gelatinekapsel) oral verabreicht. Den Patienten wurde keine spezielle Diät gegeben, die Trinkmenge war frei. Zur Bestimmung der Laborwerte wurde vor der ersten Ammoniumchloridgabe der Morgenurin gesammelt und gleichzeitig kapilläres Mischblut dem Ohrläppchen entnommen. Am Morgen nach der letzten Ammoniumchloridgabe wurde erneut Urin gesammelt und gleichzeitig eine Blutprobe entnommen.

In dem so gewonnenen Urin wurde weiterhin die Konzentration des ausgeschiedenen Ammoniaks bestimmt. Hieraus wurde mit Hilfe der von uns festgelegten Urinmenge/24 Std. (s.S. 22) die Ammoniakausscheidung im Urin berechnet. Danach weisen beide Patienten vor Belastung gegenüber dem Normalbereich eine deutlich verminderte Ammoniakausscheidung auf.

Tab. 12)

Gruppe II: Ammoniumchloridbelastung.

Name	Alter	Geschl.	Untersuchungstermin	Urinwerte				Plasmawerte			
				U_{PH}	titr.Ac. mval/l	U_{NH_3}-N µg/ml	U_{NH_3}-N g/24 Std.	P_{PH}	P_{HCO_3}- mval/l	Harnstoff-N mg%	P-Kreatinin mg%
K.F.	40	m	1 Mo.n.Tr.								
			vor Belastung	5,80	18,2	318	0,413	7,44	21	22	1,25
			nach Belastung	5,0	29,6	1080	1,404	7,29	15		
I.K.	47	m	1 Jhr.u.4 Mo. n.Tr.								
			vor Belastung	5,81	13,8	209	0,272	7,33	17	39	2,8
			nach Belastung	5,25	28,5	402	0,523	7,20			

Die Meßwerte nach Belastung zeigen, daß durch die vermehrte exogene Zufuhr von Säure sowohl der Plasmabicarbonatspiegel als auch der Blut-P_H erwartungsgemäß sinkt.

Des weiteren ist aus den Meßdaten ersichtlich, daß der P_H-Wert des Urins infolge der Säurebelastung mit Ammoniumchlorid beträchtlich sinkt. Da der Schwellenwert des P_H von 5,4 deutlich unterschritten wird und somit also eine erwartungsgemäße Ansäuerung des Urins erfolgt (33), ist eine distal-tubuläre Störung mit großer Wahrscheinlichkeit auszuschließen (57).

Ebenso wie der erniedrigte Urin-P_H eine vermehrte Ausscheidung saurer Valenzen deutlich macht, so ist auch der Ammoniak und die titrierbare Azidität in stark erhöhtem Maße an der Säureausscheidung beteiligt. Dies ist an den entsprechenden Meßwerten nach der Belastung abzulesen.

Gruppe III:

Vergleich der Ammoniakkonzentration im Blut und im Urin (Tab. 13).

Bei sechs nierentransplantierten Patienten und einer einseitig nephrektomierten Kontrollperson (Lebendspender) wurde die Ammoniakausscheidung im Urin und gleichzeitig die Ammoniakkonzentration im venösen Blut im Rahmen einer ambulanten Kontrolluntersuchung gemessen.

Der Transplantationszeitpunkt bzw. der Zeitpunkt der Nephrektomie lag bei den Probanden 3 bis 32 Monate zurück.

Gemessen am Harnstoff- und Kreatininspiegel zeigen die ersten vier Patienten der Tabelle und die nephrektomierte Kontrollperson eine ausreichende Nierentätigkeit. Bei den Transplantatträgern K.R. und I.K. ist die Nierentätigkeit dagegen deutlich eingeschränkt. Dies wird auch durch den verminderten Plasmanatriumspiegel deutlich.

Während bei dem ersten Patienten (Kl.M.) und bei der Kontrollperson (Kn.M.) der Plasmabicarbonatspiegel im Normbereich liegt, weist bei den übrigen Patienten die erniedrigte Plasmabicarbonatkonzentration auf das Vorliegen einer renal-tubulären Azidose hin.

Den nüchternen Patienten, die am Abend zuvor eiweißarme Kost zu sich genommen hatten, wurden am Morgen 10 ml Blut aus der Cubitalvene entnommen und mit der von uns angewandten Methode (s.S. 5) der Bestimmung unterworfen. Desgleichen gelangte der Morgenurin der Probanden zur Untersuchung. Mit Hilfe der von uns festgelegten Harntagesmenge von 1,3 l (s.S. 22) wurde auch hier die Ammoniakausscheidung/24 Std. ermittelt.

Tab. 13)

Gruppe III: Ammoniakbestimmung im Blut und Urin.

Name	Alter	Geschl.	Untersuchungs-termin	Urinwerte				Plasmawerte				
				U_{PH}	titr.Ac. mval/l	U_{NH_3}-N µg/ml	U_{NH_3}-N g/24 Std.	P_{NH_3}-N µg/100 ml	P_{PH}	P_{HCO_3}- mval/l	Harnstoff-N mg%	Na^+ mval/l	P-Kreatinin mg%
Kl.M.	25	w	4 Mo.n.Tr.	6,93	12,8	382	0,497	89	7,4	23	19	136	1,2
G.A.	46	w	3 Mo.n.Tr.	6,17	10,4	279	0,363	146	7,39	20	23	140	1,28
M.A.	31	m	2 J.u.1 Mo. n.Tr.	5,94	9,8	197	0,256	150	7,26	14	24	134	1,4
B.W.	28	m	1 J.u.3 Mo. n.Tr.	5,4	14	223	0,290	112	7,36	17	22	121	1,4
K.R.	26	w	2 J.u.8 Mo. n.Tr.	5,65	8,0	220	0,286	178	7,34	17	38	104	2,6
I.K.	47	m	1 J.u.4 Mo. n.Tr.	5,82	8,8	214	0,278	162	7,31	15	44	121	2,8
Kn.M.	42	w	1 J.u.4 Mo. n.Nephr.	5,85	18,2	485	0,631	67	7,45	25	21	143	1,12

Die einseitig nephrektomierte Kontrollperson (Kn.M.) zeigt sowohl für die Ammoniakausscheidung im Urin als auch für die Ammoniakkonzentration im Blut Werte, die in dem jeweils von uns bestimmten Normalbereich liegen.

Bei dem nierentransplantierten Patienten Kl.M., bei dem man aufGrund der Plasmabicarbonatkonzentration von 23 mval/l keine renal-tubuläre Azidose erwarten kann, ist die Blutammoniakkonzentration gegenüber dem von uns gefundenen Normalbereich mit 89 µg/100 ml nur mäßig erhöht. Mit 0,497 g/24 Std. liegt die Ammoniakausscheidung im Urin nur wenig unterhalb unseres Normbereiches.

Demgegenüber fallen bei den übrigen fünf Patienten dieser Gruppe (G.A., M.A., B.W., K.R. und I.K.) wesentlich stärkere Veränderungen sowohl der Ammoniakkonzentration im Blut als auch der Ammoniakausscheidung im Urin als ein Zeichen der eingeschränkten Funktion der transplantierten Niere auf.

D) ZUSAMMENFASSUNG:

1) Eine Methode zur Bestimmung des Ammoniakspiegels im Blut und der Ammoniakausscheidung im Urin wird beschrieben. Diese beruht auf einer Kombination der Mikrodiffusionsmethode von CONWAY (7), modifiziert nach SELIGSON und SELIGSON (19), und der BERTHELOT'schen Ammoniakbestimmung mit Phenol-Hypochlorit.

2) Es wird untersucht, wie lange reproduzierbare Ammoniakwerte im sofort nach der Enteiweißung eingefrorenen TCE-Extrakt zu bestimmen sind. Danach kann der enteiweißte Extrakt zumindest drei Tage bei -17° C aufgehoben werden.

3) Es werden Eichkurven und Normalbereiche für das Untersuchungsmaterial Blut und Urin erstellt. Unser Normalbereich für die Ammoniakkonzentration im Blut erstreckt sich von 37,6 bis 75 µg/100 ml, für die Ammoniakausscheidung im Urin von 0,61 bis 0,86 g/24 Std.

4) Blutammoniakkonzentrationen werden gemessen bei Patienten
   - mit Lebererkrankungen verschiedener Genese ohne nachweisbare Zirrhose (Gruppe I),
   - mit beginnender Leberzirrhose ohne nachweisbaren portalen Hochdruck (Gruppe II),

- mit kompensierter Leberzirrhose (Gruppe III),
- mit dekompensierter Leberzirrhose (Gruppe IV),
- im präcomatösen bzw. comatösen Zustand (Gruppe V),
- und bei Patienten vor und nach Anlegung einer portocavalen Anastomose (Gruppe VI).

An den Werten der Blutammoniakkonzentrationen dieses Krankengutes läßt sich eine signifikante Zunahme der mittleren Ammoniakkonzentrationen an den einzelnen Gruppen gegenüber dem Normalkollektiv ablesen. Eine Beziehung zwischen der zunehmenden Höhe der Blutammoniakwerte und der entsprechenden klinischen Symptomatologie wird in den Gruppen IV - VI deutlich. Im Einzelfall muß diese Beziehung nicht gelten. Bei einem Patienten wurden sogar im comatösen Zustand Ammoniakwerte gemessen, die stets im Normbereich lagen.

5) Bei einer Gruppe von Patienten wird eine Verlaufskontrolle durchgeführt, um den Einfluß von Arginin-Asparat-Infusionen zu testen. Diese Verlaufskontrollen haben gezeigt, daß Arginin-Asparat-Infusionen den Blutammoniakspiegel zwar immer wieder für Stunden senken, das Krankheitsbild aber auch hierdurch in seinem Verlauf nicht entscheidend beeinflußt werden kann.

6) Bei nierentransplantierten Patienten wird die Ammoniakausscheidung im Urin vor und nach Belastung mit Natriumbicarbonat bzw. Ammoniumchlorid untersucht. Weiterhin wird bei einigen dieser Transplantatträger sowohl die Ammoniakausscheidung im Urin als auch die Ammoniakkonzentration im Blut bestimmt. Es zeigt sich, daß auch bei einer deutlichen Einschränkung der Bicarbonatrückresorption die Ammoniakausscheidung auch unter einer Ammoniakbelastung in normaler Weise funktioniert. Die Ergebnisse werden auch hinsichtlich der Pathogenese der renal-tubulären Azidose bei nierentransplantierten Patienten diskutiert.

E) LITERATURVERZEICHNIS

1) NENCKI, M., J.P.PAWLOW und J.ZALESKI:

Über den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe und die Harnstoffbildung bei den Säugetieren.

Naunyn Schmiedeberg's Arch.Exp.Path.Pharmak.37, 26(1896).

2) HAHN, U., O.MASSEN, M.NENCKI und J.PAWLOW:

Die Eck'sche Fistel zwischen der unteren Hohlvene und der Pfortader und ihre Folgen für den Organismus.

Naunyn Schmiedeberg's Arch.Exp.Path.Pharmak.32, 161(1893).

3) MCDERMOTT, W. and R.D.ADAMS:

Episodic stupor associated with an Eck-fistula in human with particular reference to the metabolism of ammonia.

J. clin. Invest. 33, (1954).

4) HENNRICH, G. und H.BREUER:

Bedeutung der Blutammoniakbestimmung für die Diagnose und Prognose von Lebererkrankungen.

Ärzt. Wschr. 4, 73 (1959).

5) VORMITTAG, E., G.PAUMGARTNER, H.PUXKANDL und G.GRABNER

Zur Bestimmung des Blutammoniakspiegels als Routine-methode im klinischen Laboratorium.

Wie. Zschr. 12, 47 (1966).

6) BURG, P.V.D., and H.W.MOOK:

A simple and rapid method for determination of ammonia in blood.

Clin. Chim. Acta 8, 162 (1963).

7) CONWAY, E.J. and A.BYRNE:

An absorption apparatus for the microdetermination of certain volatile substances.

Biochem. J. London 27, 430 (1933).

8) SELGSON, D. and K.HIRIHARA:

The measurement of ammonia in whole blood, erythrocytes and plasma.

J. Laborat. Clin. Med., S.Louis 49, 962 (1957).

9) HUTCHINSON, J.H. and J.H. LABBY:

New method for microdetermination of blood ammonia by use of cation exchange resin.

J. Laborat. Clin. Med., S.Louis 60, 170 (1962).

10) DIENST, S.G.:

Anion exchange method for plasma ammonia concentration.

J. Laborat. Clin. Med., S.Louis 58, 149 (1961).

11) STANOJEVIC, L.:

Die physiologische und klinische Bedeutung des Blutammoniaks.

Theodor Steinhoff, Dresden-Leipzig (1938).

12) NATHAN, D.G. and F.L.RODKEY:

A colorimetric procedure for the determination of blood ammonia.

J. Laborat. Clin. Med., S.Louis 49, 779 (1957).

13) SLYKE VAN, B.D. and A.HILLER:

Determination of ammonia in blood.

J. Biol. Chem., Baltimore 102, 499 (1933).

14) STONE, W.E.:

A new colorimetric reagent for microdetermination of ammonia.

Proc. soc. Exp. Biol. Med., N.Y. 93, 589 (1956).

15) PROCHAZKOWA, L.:

Spectrophotometric determination of ammonia as rubacoic acid with bispyrazolone reagent.

Ann. Chem. 36, 865 (1964).

16) KONITZER, K. und S. VOIGT:

Direktbestimmung von Ammonium in Blut- und Gewebsextrakten mit der Phenol-Hypochloritreaktion.

Clin. Chim. Acta 8, 5 (1963).

17) MÜLLER-BEISSENHIRTZ, W. und H. KELLER:

Zur Bestimmung des Blutammoniaks.

Klin. Wschr. 43, 43 (1965).

18) KIRSTEN, E., G. GEREZ und R. KIRSTEN:

Eine enzymatische Mikrobestimmung des Ammoniaks, geeignet für Extrakte tierischer Gewebe und Flüssigkeiten.

Biochem. Zschr., Berlin 337, 312 (1963).

19) WELLER, H.:

Die Verwendung der Berthelotschen Reaktion auf Ammoniak in der klinischen Chemie. Teil I:Untersuchung der Reaktion und ihre Empfindlichkeit.

Röntgen- und Laborpraxis 15, L 77 (1962).

20) WELLER, H.:

Die Verwendung der Berthelotschen Reaktion auf Ammoniak in der klinischen Chemie. Teil II: Die praktische Anwendung der Reaktion zur Bestimmung von Harnstoff, Reststickstoff, Gesamtstickstoff und Ammoniak.

Röntgen- und Laborpraxis 15, L 142 (1962).

21) LUBOCHINSKY, B. and J.P.ZALTA:

Microdosage colorimetrique de l'azote ammoniacal.

Bull. soc. chim. biol., Paris 36, 1363 (1954).

22) MC CULLOUGH, H.:

Die Bestimmung von Ammoniak im Gesamtblut durch eine direkte colorimetrische Methode.

Clin. Chim. Acta 17, 297 (1967).

23) MÜTING, D., J.HEINZE, M.MOMPER, M.SCHWARZ und F.H.SCHMIDT:

Zur Methode und klinischen Bedeutung der Blutammoniakbestimmung.

Dtsch. Med. Wschr. 26, 1390 (1970).

24) MUFTIC, M.K.:

A new phenole-hypochlorite reaction for ammonia.

Nature London 201, 622 (1964).

25) HENNRICH, G. und H.BREUER:

Blutammoniakbestimmung in der Leberfunktionsdiagnostik.

Dtsch. Med. Wschr. 84, 1415 (1959).

26) MARTINI, G.A.:

Die Bedeutung des Blutammoniaks für die Entstehung des Lebercomas.

Dtsch. Med. Wschr. 86, 1351 (1961).

27) MARTINI, G.A. und J.P.WIEBEL:

Ammoniakbestimmung im Blut zur Differentialdiagnose akuter Blutungen im oberen Verdauungstrakt.

Med. Klinik 59, 618 (1964).

28) RISSEL, E., N.STEFENELLI und F.WEWALKA:

Über den Ammoniakgehalt des Blutes bei Leberkrankheiten.

Wien. Klin. Wschr. 69, 172 (1957).

29) ZÖLLNER, N. und P.BIRK:

Die Bestimmung des Blutammoniaks und ihre Ergebnisse bei Leberkrankheiten.

Klin. Wschr. 36, 570 (1958).

30) ENGLHARDT, A., B.HAERTWIG, M.Th.BRAUNS, K.HINSSEN, M.BESUCH, G.STROHMEYER und F.H.FRANKEN:

Methoden der Blutammoniakbestimmung und ihre Bedeutung für die Diagnostik und Verlaufskontrolle von Leberkrankheiten.

Dtsch. Med. Wschr. 31, 1601 (1970).

31) STROHMEYER, G. K.SCHNEIDER und G.A.MARTINI:

Das Verhältnis von Blutammoniak zu Ketosäuren bei chronisch Leberkranken.

Klin. Wschr. 9, 413 (1963).

32) MÜLLER-SEIFERT:

Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik.

J. F. Bergmann, München 1966.

33) DEETJEN, P.:

Niere und ableitende Harnwege.

in: SIEGENTHALER, W.: Klinische Pathophysiologie. G. Thieme, Stuttgart 1970.

34) PSCHYREMBEL, W.:

Klinisches Wörterbuch.

Walter de Gruyter & Co, Berlin 1969.

35) REYNOLDS, T.W. and A.G.REDECKER:

Hepatic hemodynamics and portal hypertension.

in: POPPER, H., F.SCHAFFNER: Progress in liver disease, Bd. II.
Grune & Stratton, New York 1965).

36) SCHMID, M.:

in:SIEGENTHALER, W.: Klinische Pathophysiologie.
G. Thieme, Stuttgart 1970.

37) POPPER, H., H.ELIAS, D.E.PETTY:

Vascular pattern of the cirrhotic liver.

Amer. J. Clin. Path. 22, 717 (1952).

38) SCHMITT, W., K.-B.ZIEGLER:

Der Einfluß von L-Ornithin-L-Asparat auf den arteriellen und venösen Blutammoniakspiegel bei Leberzirrhotikern.

Med. Welt 21, 1361 (1970).

39) HEGGLIN, R.:

Differentialdiagnose innerer Krankheiten.

G. Thieme, Stuttgart 1970.

40) SHERLOCK, S.W., H.J.SUMMERSKILL, L.W.WHITE, E.A.PHEAR:

Portal systematic encephalopathies neurological complications of liver disease.

Lancet 2, 459 (1954).

41) BRÜHL, W.:

Leber- und Gallenwegserkrankungen.

G. Thieme, Stuttgart 1970.

42) MARTINI, G.A., F.STELZNER, W.DÖLLE:

Enzephalopathie nach operativ angelegter portocavaler Anastomose.

Dtsch. Med. Wschr. 86, 461 (1961).

43) ESSER, G.:

Pfortaderhochdruck und Eiweißstoffwechsel.

Walter de Gruyter & Co, Berlin 1969.

44) KOMMERELL, B. und A.STIEHL:

Zur pathophysiologischen und klinischen Bedeutung der Laboruntersuchungen bei Hepatitis und Zirrhose.

Med. Welt 21, 672 (1970).

45) SHERLOCK, S.:

Pathogenesis and management of hepatic coma.

Am. J. Med. 24, 805 (1958).

46) STAHL, J.:

Studies of the blood ammonia in liver disease.

Ann. Int. Med. 58, 1 (1963).

47) EISEMAN, B., W.G.FOWLER, P.J.WHITE, G.M.CLARK:

The role of the ammonia in the production of the hepatic coma.

Surg. Forum 6, 369 (1955).

48) MÜTING, D.:

Pathogenese und Therapie der portalen Enzephalopathie.

Dtsch. Med. Wschr. 35, 1403 (1971).

49) KOMMERELL, B.:

Therapie der Leberzirrhose.

Dtsch. Med. Wschr. 10, 430 (1971).

50) HAEMMERLI, G. and F.J.BIRCHER:

Treatment of chronic portalsystematic encephalopathie with lactulose.

Lancet I, 890 (1960).

51) WILDHIRT, E.:

Das Terminalstadium der Leberkrankheiten und das Coma hepaticum.

in: Der Internist 10, 439. Springer, Berlin 1965.

52) THALER, H.:

Die Shuntoperation bei portaler Hypertension aus internistischer Sicht.

Dtsch. Med. Wschr. 43, 1653 (1971).

53) FRANK, H. und J.LEODOLTER:

Leberzirrhose.

Dtsch. Med. Wschr. 32, 1291 (1971).

54) HAMMELMANN, H. und J. NITZSCHKE:

Die Indikation zur portocavalen Anastomose.

Dtsch. Med. Wschr. 22, 957 (1971).

55) SCHMID, M.:

Prophylaktische Shuntoperation bei Pfortaderhochdruck.

Dtsch. Med. Wschr. 9, 384 (1971).

56) KALK, H. und E.WILDHIRT:

Krankheiten der Leber.

in: COBET, R., R.K.GUTZEIT, H.E.BÖCK und F.HARTMANN: Klinik der Gegenwart. München-Berlin 7, 377 (1958).

57) LIEBAU, G., R.MÜLLER, H.SCHAD und H.H.EDEL:
Azidose bei nierentransplantierten Patienten.
Klin. Wschr. 10, 624 (1970).

58) RODRIGEZ-SORIANO, J. and C.M.EDELMANN:
Renal tubular acidosis.
Ann. Rev. Med. 20, 363 (1969).

59) BETTER, O.S., C.CSAIMOWITZ, Y.NAVEH, A.STEIN, A.M.NAHIR, A.BARULAT and E.ERLICH:
Syndrome of incomplete renal tubular acidosis after cadaver kidney homotransplantation.
Ann. Int. Med. 71, 39 (1969).

60) MASSRY, S.G., H.G.PREUSS, J.F.MAHER and G.E.SCHREINER:
Renal tubular acidosis after cadaver kidney homotransplantation.
Amer. J. Med. 42, 284 (1967).

LEBENSLAUF:

Am 27. Nov. 1943 wurde ich als Tochter des Physiko-Chemikers Dr. Hans-Heinrich Kahle und seiner Ehefrau Wilma in München geboren. Nach fünfjähriger Volksschulzeit bestand ich die Aufnahmeprüfung zum Privatgymnasium Adam. Ab 1956 besuchte ich das Realgymnasium in Icking, wo ich 1963 das Abitur ablegte.

Im Winterhalbjahr 1963/64 begann ich das Studium der Medizin in München, wo ich 1970 das medizinische Staatsexamen ablegte. Vom 1. Dez. 1970 bis 31. Mai 1971 absolvierte ich in der Chirurgischen Privatklinik Dr. Stanischeff eine 6-monatige Ausbildung als Medizinalassistentin.

Ich bin mit Herrn Dr. jur. Karl-Heinz Litzinger seit 1971 verheiratet.